Leitfaden und Lehrbuch

System der

natürlichen Hefereinzucht

301

22102060924

Med
K15682

System

der

natürlichen Hefereinzucht.

Gesammelte Vorträge und Arbeiten

herausgegeben

von

Dr. M. Delbrück,
Geh. Reg.-Rat, Professor an der Kgl. Landwirtschaftlichen Hochschule und Vorsteher des Instituts für Gärungsgewerbe in Berlin.

und

Dr. F. Schönfeld,
Vorsteher des Betriebslaboratoriums und der Abteilung für Obergärung an der Versuchs- u. Lehranstalt für Brauerei in Berlin

CHEMICAL SOCIETY
BURLINGTON HOUSE. W.

Berlin.
Verlagsbuchhandlung Paul Parey.
Verlag für Landwirtschaft, Gartenbau und Forstwesen.
SW., Hedemannstraße 10.
1903.

WELLCOME INSTITUTE
LIBRARY
Coll. wellcomec
Call No.

Vorwort.

Durch die jüngsten Arbeiten von F. Schönfeld und W. Henneberg hat das System der natürlichen Hefereinzucht einen gewissen Abschluß erhalten: es ist den beiden genannten Forschern gelungen, die Hefetrennung nach dem Satz- und Triebverfahren mit Brauerei- und Brennereihefen mit glänzendem Erfolge durchzuführen. Es erschien mir daher an der Zeit, die in den von mir herausgegebenen Zeitschriften zerstreut veröffentlichten Vorträge und Arbeiten über natürliche Hefereinzucht in einem Bande zusammenzufassen. Hierzu kam, daß meine erste Arbeit über diesen Gegenstand, die auch in Broschürenform ausgegeben war, seit längerer Zeit vergriffen ist.

Ich entschloß mich, in eine Neubearbeitung nicht einzutreten, vielmehr die historische Entwickelung dieser Lehre durch die chronologische Aufeinanderfolge der einzelnen älteren Veröffentlichungen zur Darstellung zu bringen: Das Heft bringt also die Aktenstücke zur natürlichen Hefereinzucht.

Bei einigen Arbeiten — so der umfangreichen von F. Rothenbach — erschien es zweckmäßig, das wichtigste in einem Auszug zu bringen, im übrigen sind einfach die Originalarbeiten zum Abdruck gebracht. Neu hinzugefügt ist der Abschnitt XVI, „Gesamtergebnisse", er enthält die Fassung der „Gesetze", wie ich sie meinen Vorlesungen zu grunde lege und 1901 zu diesem Zweck niedergeschrieben und in einem Abriß der Vorlesungen veröffentlicht habe.

Die Gesetze der natürlichen Hefereinzucht sind naturgemäß ohne weiteres auszugestalten zur natürlichen Pilzreinzucht und spielen in dieser Form eine wichtige Rolle nicht nur in den eigentlichen Gärungsgewerben, vielmehr auch in der Molkerei, bei der gewerblichen Herstellung von Milchsäure, Buttersäure und dergleichen.

Den größten Wert aber lege ich auf die Anwendung in der Hygiene und der Agrikulturbakteriologie. Ist es einmal erkannt, daß ein Pilz den anderen bis zur Vernichtung der letzten Zelle auszutreiben vermag, so liegt der Gedanke sehr nahe, daß man in der Hygiene unschädliche Kampfpilze zur Vernichtung der Infektionspilze benutzen kann. Die Düngung des Ackers mit Stickstoffpilzen hat offenbar wenig Sinn, wenn es nicht gelingt, durch passende Einstellung des „Klimas" und der Ernährung den Edelpilz gegenüber den Wildlingen im Ackerbau zum Übergewicht zu bringen.

Meine Darlegung, daß in diesem Sinne die natürliche Pilzreinzucht die Unterlage praktischer Agrikulturbakteriologie werden müsse, hat die Landwirtschaftskammer Brandenburg veranlaßt, die Errichtung einer erdbakteriologischen Abteilung am Institut für Gärungsgewerbe, die Herrn Professor Dr. Remy unterstellt ist, durch Subvention zu ermöglichen.

Ich hoffe meinen Mitarbeitern — denn alle diese Untersuchungen stammen aus dem Institut für Gärungsgewerbe —, insbesondere den nicht mehr unserer Anstalt angehörigen, durch diesen Neudruck eine Freude zu machen, sie werden mit Genugtuung der gemeinsamen, erfolgreichen Tätigkeit gedenken.

Besonderen Dank bin ich Herrn Dr. Schönfeld schuldig, der die Güte gehabt hat, die Zusammenstellung und, wo es zweckmäßig schien, die auszugsweise Darstellung zu übernehmen.

Berlin, im Juni 1903.

M. Delbrück.

Inhalt.

Seite

I. Die natürliche Hefereinzucht. Von M. Delbrück. Wochenschrift für Brauerei. 1895. 1
1. Künstliche und natürliche Hefereinzucht. Einleitende Betrachtungen 1
2. Die Gesetze der natürlichen Reinzucht. 6
3. Zur Begründung und Anwendung der natürlichen Reinzucht 8
Die natürliche Reinzucht im Brennereigewerbe. 8
„ „ „ in der Preßhefefabrikation . . . 11
„ „ „ im Brauereibetriebe 12
Obergärige Brauerei 14
Untergärige Brauerei 14
Einfluß der niedrigen Gärtemperatur 16
Schichtenbildung. 19
Das amerikanische Gärsystem 20
Trennungsversuch von Hefen Saaz und Frohberg . 22
Die Gärungsphysiologie im Dienste der Praxis . . 26

II. Die Ausbildung der Kunsthefebereitung zum natürlichen System der Hefereinzucht. Vortrag von M. Delbrück auf der Generalversammlung des Vereins der Spiritus-Fabrikanten in Deutschland (Februar 1895). Zeitschrift für Spiritusindustrie, Ergänzungsheft. 1895 28
Selbstreinigung gegenüber Spaltpilzen und unbrauchbaren Heferassen. 28
Munsche gelingt die Unterdrückung der Brauereihefe durch Rasse II 30
Dextrin vergärende Hefen, Pombe 31

III. Die natürliche Reinzucht in der Praxis. Vortrag von M. Delbrück auf der Generalversammlung der Vereins „Versuchs- und Lehranstalt für Brauerei in Berlin“ (Juni 1895). Wochenschrift für Brauerei. 1895. 31
Rechtfertigung gegenüber Hansen 31
Schichtenbildung und Temperatur als Mittel zur Reinigung der Hefe 37

Seite

Entfernung der wilden Hefe aus Brauereibetriebshefe durch warme Gärführung und Umpumpen, Grünschlauchen (experimentelle Versuche von Munsche) 38

Infektionshefen (wilde und Brauerei-Kahm-Hefen) sind Kalthefen. Kulturhefen sind Warmhefen. Warme Gärführung. Schnellgärung 42

IV. Neues über natürliche Hefenzucht. Von M. Delbrück. Vortrag auf dem 8. Deutschen Brauertag in Nürnberg (Juni 1896). Wochenschrift für Brauerei. 1896 46

Bevorzugung der Kulturhefe durch schnellere Entwickelung (reichliche Aussaat, rechtzeitige Lüftung, warme Gärführung) und das Scheiden nach dem Satzverfahren 46

Anpassung der Hefe. Gewöhnung der Kulturhefe an kalte, der wilden Hefe an warme Temperaturen; Überlegenheit der wilden Hefe bei kalten Temperaturen 50

V. Beiträge zur experimentellen Prüfung der Gesetze der natürlichen Reinzucht. Von A. Munsche. Wochenschrift für Brauerei. 1895 54

Untersuchungsmethoden 55

Trennung von wilden Hefen und Kulturhefen (untergärige Brauereihefen Saaz und Frohberg). Laboratoriumsversuche. Entfernung der wilden Hefe durch Fortzüchtung des Satzes bei warmer Temperatur; Unterdrückung der normalen Hefe durch Weiterzüchtung der im Biere schwebenden Zellen . . 57

VI. Die Entfernung der wilden Hefe aus infizierter Betriebsunterhefe durch natürliche Reinzucht. Von A. Munsche. Wochenschrift für Brauerei. 1895. 62

Versuche in der Praxis.

A. Bei Braumeister Panzner.

Gärführung und Hefebehandlung 62

Reinigung durch Gärung (Umpumpen) 64

Feststellung der Verunreinigung in den einzelnen Hefeschichten 65

Reinigung durch Schlämmen 67

B. Wiederholung des Versuches in der Versuchsbrauerei . . 68

VII. Beiträge zur experimentellen Prüfung der Gesetze der natürlichen Reinzucht. Von A. Munsche. (Trennung von obergäriger Hefe Rasse II und Brauereibetriebsunterhefe). Zeitschrift für Spiritusindustrie. 1895 73

Laboratoriumsversuche (Gärungsversuche a) mit Mischhefe 1 : 1, b) Rasse II, c) Brauereiunterhefe).

I. Versuchsreihe.

Hohe Gärtemperatur, hohe Konzentration der Maische. 74

Methoden zur Feststellung der Abwesenheit von untergäriger Bierhefe in obergäriger Brennereihefe 78

II. Versuchsreihe.

Hoher Säuregehalt. 81

Seite

VIII. Experimentelle Beiträge zur natürlichen Hefereinzucht. Von Sigbert Auerbach. Wochenschrift für Brauerei. 1895. . . . 85
Trennung von Kahmhefe und untergäriger Brauereihefe . . 85
Schichtenbildung bei 10° R. 85
Konkurrenzversuche ohne Lüftung. 86
a) kleine Aussaatmenge 86
b) große Aussaatmenge 86
Konkurrenzversuche mit Lüftung 86
„ „ Nährsalzzusatz 87
„ „ Milchsäurezusatz. 87
Trennung von Kahnhefe und Brennereihefe 88

IX. Die Dextrin vergärende Hefe Schizosaccharomyces Pombe und ihre eventuelle Einführung in die Praxis. Von F. Rothenbach. Zeitschrift für Spiritusindustrie. 1896 90
Vergleichende Gärversuche mit Pombe und Rasse II bei Anwendung gekochter Brauereiwürze. Pombe vergärt Dextrin 90
Säurebildung der Pombe 92
Pombe unterdrückt Spaltpilze 92
Einwirkung der Pombe auf hochprozentige diastasehaltige Maischen 97
Verhalten von Pombe und Rasse II gegen Milchsäure . . . 98
Versuche mit Pombe in der Praxis 100

X. Die Anwendung spaltpilzfeindlicher Agentien im Brennereibetriebe mit besonderer Berücksichtigung der Kunsthefeführung. Von F. Rothenbach. Zeitschrift für Spiritusindustrie. 1896. . . . 103
Erwähnung älterer Arbeiten 103
Angaben über Versuchs-Anstellung 104
Konkurrenzversuche zwischen Rasse II Flußsäure akklimatisiert; Hefe Buir Flußsäure; Rasse II Salzsäure akklimatisiert; Rasse II Milchsäure. Kunsthefeführung 105
Konkurrenzversuche zwischen Flußsäurehefe Buir; schwefligsäurehefe Rasse II nicht akklimatisiert, und Flußsäurehefe Rasse II nicht akklimatisiert 107
Konkurrenzversuche zwischen Flußsäurehefe Rasse II nicht akklimatisiert; Hefe Buir; Schwefligsäurehefe Rasse II nicht akklimatisiert; Milchsäurehefe Rasse II mit Formaldehyd geführt, nicht akklimatisiert 110
Versuche in der Praxis mit Salzsäure- und Formaldehydzusatz 110

XI. Trennung hoch- und niedrigvergärender Heferassen durch geeignete Gärführung. Vortrag von F. Schönfeld auf der Generalversammlung des Vereins „Versuchs- und Lehranstalt für Brauerei in Berlin (Oktober 1901). Jahrbuch d. V. L. B., 1902. 113
Mischhefe als Stellhefe in der Versuchsbrauerei 114
Künstliche Mischung von hoch- und niedrigvergärenden Rassen als Stellhefe 115

		Seite
	Benutzung der untersten Schicht als Stellhefe	116
	Umpumpen nach Rückgang der Kräusen	117
XII.	Trennung von hoch- und niedrigvergärenden untergärigen Hefen. Von F. Schönfeld. Wochenschrift für Brauerei. 1902	119
	Ausführliche Zusammenstellung der unter XI angeführten Versuche in Tabellen	119
XIII.	Vergleichende Betrachtungen über das Verhalten von Hefe Saaz und Frohberg bei der Hauptgärung in untergärigem Biere. Von F. Schönfeld. Wochenschrift für Brauerei. 1902	125
	Vermehrungsfähigkeit	125
	Periode des Hefenwachstums	129
	Gärintensität	129
	Angärung	130
	Form und Größe der Zellen	130
XIV.	Trennung von Brennereiheferassen auf dem Wege der natürlichen Reinzucht. Von W. Henneberg	133
	Versuche im großen	133
	„ in Roggenmalzmaische	134
	„ in Kartoffelmaische	134
	Laboratoriumsversuche mit Kartoffelmaische und mit Würze	135
XV.	Die Kampfenzyme. Von M. Delbrück. Wochenschrift für Brauerei. 1903	136
	Erzeugnisse der Pilze als Gifte für andere: Alkohol, Kohlensäure, Milchsäure, Buttersäure, Essigsäure	136
	Kampfenzyme verschiedener Art in den Pilzen	137
	Erzeugung von Gegengiften, Antikörpern	138
	Buttersäure ein Reizmittel zu stärkerer Gärwirkung der Hefe	138
	Peptasen als Kampfenzyme	138
	Zooglöenbildung als Kampfenzym	139
	Die verschiedenen Umsatzstoffe der Hefen als Kampfenzyme	139
XVI.	Gesamt-Ergebnisse. Von M. Delbrück	141
	A. Natürliche Reinzucht; allgemeine Gesetze	141
	Einteilung der Hefen nach Gärfähigkeit. Gärhefen — Lufthefen	142
	Einteilung nach Empfindlichkeit	
	a) gegen Umsatzstoffe	142
	b) gegen Säuren und Antiseptika	142
	c) gegen Temperatur	143
	B. Natürliche Reinzucht nach dem Satz- oder Triebverfahren	143
	Hefen gleicher Größe und gleichen spezifischen Gewichtes	144
	Hefen verschiedener Größe und verschiedenen spezifischen Gewichtes	144
	Zellgruppen	144

Die natürliche Hefereinzucht.

Von M. Delbrück.

(Wochenschrift für Brauerei 1895.)

1. Künstliche und natürliche Hefereinzucht.

Einleitende Betrachtungen.

Nachdem die praktische Anwendung der Hefereinzucht nach Hansens System in allen Gärungsgewerben durchschlagende und Dauer verbürgende Erfolge errungen hat, scheint mir der Zeitpunkt gekommen, das Material, welches dieses System selbst geliefert hat, und anderes, welches die bakteriologische Forschung bereits vorher geschaffen hatte und noch täglich erweitert, in einer mehr aktiven Weise für die Erzeugung reiner Gärungen zu verwerten.

Die „reine Gärung", wie sie die aseptische Methode, welche wir Pasteur verdanken, gewährleistet, und ihre Erhebung zur „Einzellenzucht", welche Hansens System ist, bedingt eine Arbeitsweise, welche an sich eine innere Entwickelung nicht mit sich bringt.

Anfang und Ende der modernen Arbeitsweise liegt in drei Gedanken:

1. Aussaat von Reinhefe, rein in der Rasse und rein von Spaltpilzen;
2. Verwendung eines sterilen Gärsubstrats (Bierwürze, Wein- oder Branntweinmaische);
3. Abhaltung jeder von außen hinzutretenden Infektion.

Ich sage, dieses System hat etwas Starres, nicht Entwickelungsfähiges und, wenn man will, den Fortschritt Ertötendes an sich. Wie es erfunden war, war es auch fertig; es konnte durch Auffindung besserer und leistungsfähigerer Heferassen praktisch brauchbarer gemacht werden; es konnte die Sterilisierung der Würze, der Maische, ihre Abkühlung unter Verhinderung der Infektion sicherer gestaltet werden, die Reinhaltung von Leitungen, Gärräumen, Gärbottichen und Lagerfässern immer weiter entwickelt werden —

aber neue fruchtbringende Gedanken sind aus ihm nicht geboren. Das System hat etwas Reaktionäres an sich, nur mit Anstrengung hat man sich zur Anschauung bequemt, welche besonders von mir und meinen Mitarbeitern vertreten wird, daß die „Rasse", sichergestellt in ihrer Abkunft von „einer" Zelle, doch nichts Unabänderliches darstelle, daß die Eigenschaften, abgesehen von den Rasseeigentümlichkeiten, auch von dem „physiologischen Zustand" der Reinhefe abhängen. Ich erinnere nur daran, wie schwer man gelernt hat, daran zu glauben, daß der Vergärungsgrad, den eine Reinhefe in gleicher Würze erzeugt, nicht konstant ist, daß er vielmehr abhängt von dem physiologischen Zustand der Hefe, welcher seinerseits bedingt wird durch die Lüftungsverhältnisse, Temperaturführung, Aussaatmenge, mit einem Wort von den gesamten Lebensverhältnissen, welche der Hefe geboten werden.

Aber, um keine Unklarheit aufkommen zu lassen: sicher gestellt konnten auch diese Forschungen, deren Hauptresultate schon vor Hansen — so z. B. die Feststellungen Hayducks über den Einfluß der Stickstoffernährung — gewonnen waren, erst werden, nachdem der neue Kunstgriff, das Arbeiten mit einer Zelle als Ausgangspunkt, zum wissenschaftlichen und praktischen Prinzip erhoben war. —

Das moderne System kennt nur mechanische Mittel zur Reinhaltung der Gärung: ob die Temperaturen hoch oder niedrig, ob die Lüftung stark oder mäßig, ob die Hefe ruht oder bewegt wird, die Gärung bleibt rein, wenn nur die reine Aussaat und die Abhaltung der Infektion sichergestellt wird. Das Ideal ist das hermetisch geschlossene Kühlsystem, der hermetisch geschlossene Gärbottich, welcher mit filtrierter Luft gespeist wird.

Aber man weiß, daß an dieser Einseitigkeit, welche dazu führt, alle praktischen Regeln als wertlos anzusehen, das System selbst leicht hätte scheitern können: man hat es nur dadurch halten können, daß man auf die vollkommen konsequente Durchführung verzichtete — daß man wohl das Kühlschiff verließ, die peinlichste Sauberkeit überall herrschen ließ, im übrigen aber die alten offenen Gärbottiche behielt, auch die Speisung der Keller mit filtrierter Luft aufgab und das System unterstützte durch die bewährten Methoden der Hefebehandlung im Brauerei- oder Brennereibetriebe, welche in sich ein natürliches System der Hefereinzucht darstellen.

Das System der „Einzellenkultur" kann man im Gegensatz hierzu als das System der „künstlichen Reinzucht" bezeichnen.

Das künstliche System beruht in der Negative; das System der natürlichen Hefereinzucht schafft positive Arbeit.

Das künstliche System schließt ab mit der Abhaltung der Infektion, und ist diese doch eingetreten, so verwirft es die Hefe und ersetzt sie durch neue Original-Reinzucht; das natürliche System arbeitet aktiv: seine Hilfsmittel gestatten, eine verunreinigte Hefe zu reinigen; unter der Hand des

Künstlers, der sie anzuwenden versteht, muß eine unrein erhaltene Hefe zur Reinhefe werden.

Diese Anschauung herrscht seit langer Zeit in den Gärungsgewerben, soweit es sich um die Abhaltung und Vertreibung der Spaltpilze handelt, sie ist durch die Arbeiten der Berliner Schule besonders entwickelt im Brennereigewerbe vorhanden, in welchem wir die sogenannte „Kunst-Hefebereitung", wie ich auch in dieser Arbeit nachzuweisen gedenke, als ein komplettes System der natürlichen Reinzucht zu betrachten haben. Gleiche Grundsätze habe ich auch auf das Brauereigewerbe mit Erfolg angewendet.

In dem Gärungsverfahren beider Gewerbe liegt aber auch ein die Heferassen sonderndes Verfahren versteckt.

Im Brennereigewerbe erscheint die „natürliche Reinzucht" in der Tat sehr natürlich, handelt es sich doch einfach darum, der stärksten Hefe den Vorrang zu geben, sie zu unterstützen im Kampf ums Dasein gegen schwächere. Umgekehrt im Brauereigewerbe.

Ist dieses Gewerbe nicht deshalb gerade so großen Gefahren ausgesetzt, daß eine einmal vorhandene Infektion mit wilder Hefe sich unwiderstehlich vermehrt, weil eben der sie verursachende Organismus der altersschwachen Kulturhefe weit überlegen ist?

Diese Anschauung erscheint nicht unberechtigt, denn im Gegensatz zum Brennereigewerbe soll ja in der Brauerei nicht eine hohe, sondern eine mittlere Vergärung erzielt werden; die Kunst der Brauer ist, sowohl den Verzuckerungsprozeß, wie die Gärung so zu leiten, daß für den Biertrinker etwas an Stoff übrig bleibt. Der Brauer braucht eine schwache Hefe.

Und so muß es hier Ursachen geben, welche unter gewissen Umständen dem Schwachen das Übergewicht verleihen; ja ich möchte das Gärsystem der untergärigen Brauereien geradezu als ein solches bezeichnen, welches aus Hefegemischen dem Schwächeren zum Siege verhilft!

Denn wie wäre es anders möglich gewesen, daß auf dem Wege der natürlichen Reinzucht sich allmählich die schwachen untergärigen Brauerei-Heferassen von den starken obergärigen und Brennerei-Heferassen sondern konnten; und daß auch unter den untergärigen Rassen sich Unterschiede ausbildeten! Oder gibt es diese Unterschiede erst seit Einführung der künstlichen Reinzucht? Dies anzunehmen, wäre ein großer Irrtum. Seit unvordenklicher Zeit haben die Brauer untereinander Hefen ausgewechselt, Saathefe bezogen, von welcher sie einen bestimmten Vergärungsgrad erwarteten.

Und damit sind wir mitten in dem Kernpunkt der ganzen Frage, welche sich dahin zuspitzt:

Wie ist es zu erklären, daß sich in den verschiedenen Brauereibetrieben die ihnen eigentümlichen Hefen ausbilden und von anderen konkurrierenden absondern konnten?

Hier wird in einer Richtung die Antwort wieder leicht gegeben sein;

denn wie wäre es erstaunlich, daß obergärige Hefen sich von untergärigen sondern? Geht doch ihre Fortpflanzung in der Weise vor sich, daß in der ersteren die zu Boden gehende Hefe zur Anstellung neuer Gärungen dient, während in letzterem Falle die nach oben treibende Hefe zur Fortpflanzung abgenommen wird. Und in diesen beiden Eigenschaften, sich räumlich nach oben und unten zu sondern, erkannte man schon einen charakteristischen Unterschied in den Hefen weit früher, als man überhaupt wußte, daß man es in den Hefen mit lebendigen Gebilden pflanzlicher Natur zu tun habe.

Schwieriger schon ist es, wenn die Absonderung der Hefe des Berliner Weißbieres (denn wie P. Lindner nachwies, handelt es sich hier um besondere Heferassen) aus den gewöhnlichen Obergärungshefen erklärt werden soll. Und wie will man Gründe finden für die selbsttätige Trennung der schwachen Hefe Saaz von der Hefe Frohberg?

Aber lohnt es sich denn, diese Fragen zu erörtern? Die jetzige Entwickelung der Wissenschaft und Technik scheint doch die natürliche Reinzucht bereits verworfen zu haben.

Im Braugewerbe ist die künstliche Reinzucht durchgeführt, und diejenigen Brauereien, welche mit Reinhefe arbeiten, haben als Lieferanten von Stellhefe so sehr das Übergewicht, daß man für Deutschlands untergärige Brauereien wenigstens, wenn nicht sogar für die des europäischen Kontinents überhaupt, die Meinung vertreten kann, es gibt nur noch Reinhefe oder Reinzuchtabstammung. In den Vereinigten Staaten von Amerika liegt es schon anders, denn dort giebt es Anhänger der alten Schule, nota bene keineswegs alte Herren, welche glauben, ohne Reinhefe auskommen zu können, eventuell gar besser ohne sie zu fahren. Die Behauptung, welche mir in verschiedenen unzweifelhaft sehr gut geleiteten amerikanischen Brauereien entgegengetreten ist, daß man seit sechs Jahren oder noch länger die gleiche Hefe, nicht Reinzucht, verwende, und der Gedanke, die Hefe zu wechseln, überhaupt keine Stätte finde — diese Behauptung ist für mich die Ursache gewesen, zu überlegen, ob es nicht in der Tat Eigentümlichkeiten in der amerikanischen Gärungsführung gebe, welche nicht nur die Infektion abhält, sondern auch geeignet sei, etwa vorhandene Infektion wieder auszuscheiden.

Ähnlich im Brennereigewerbe: die von mir in Deutschland eingeführte Reinhefe hat einen geradezu durchschlagenden Erfolg zu verzeichnen. Der Verein der Spiritus-Fabrikanten in Deutschland war in der Lage, um den Bedarf von Reinhefe decken zu können, eine Hefezuchtanstalt für Großbetrieb einrichten zu müssen; und man kann sagen, daß zurzeit (1895) fast alle in Betracht kommenden Brennereien des Verbandes in Deutschland, etwa 800 an der Zahl, Reinhefe verwenden und zwar die von den betreffenden Züchtungen als Rasse II bezeichnete. Also sind auch im Brennereigewerbe Zustände vorhanden gewesen, welche keineswegs die Schaffung einer guten Hefe durch natürliche Reinzucht mit Sicherheit ermöglichten.

Doch in den Vereinigten Staaten liegt das Brennereigewerbe, sollte man meinen, noch im Winterschlaf: nicht nur keine Reinhefe ist hier die Parole, nicht einmal Kulturhefe will man. Der Brenner, welcher schlechte Gärungserfolge seiner Hefe zuschreibt, bezieht nicht Saathefe aus anderen Brennereien oder, wie es in Deutschland üblich ist, aus Preßhefefabriken die Bäckerhefe: nein, er macht sich selbst eine neue Hefe, indem er eine passend bereitete Maische der Infektion durch die Luft aussetzt und diese „wilde Hefe" weiter züchtet.

Die Kenntnisnahme an Ort und Stelle, daß dieses alte Verfahren noch immer und zwar in Großbetrieben allerersten Ranges, wie wir sie in Deutschland garnicht kennen, im Gebrauch sei, brachte mich in die Notwendigkeit, zu prüfen, ob hier nur alter Zopf oder ein durch praktische Erfahrung brauchbares System, natürliche Reinzucht, vorliege.

In der Weinbereitung kann man von natürlicher Reinzucht in dem oben angedeuteten Sinne nicht sprechen, denn hier gibt es eine Fortpflanzung der Hefe im Sinne der Brauer nicht: was durch Zufall an Organismen an den Beeren sich findet, das kommt zur Entwickelung und bereitet als Hefe den Wein. Oder liegt hier doch ein Akt natürlicher Reinzucht vor, indem gerade die echten Weinhefen geeignet sind, den Winter im Erdboden zu überstehen, während unedle oder nicht zur Weingärung geeignete Hefen hierbei zu Grunde gehen! Doch diese Art der natürlichen Reinzucht fängt auch an, der künstlichen zu weichen: die Stationen, welche nach Hansens System Reinhefe zur Abgabe an die Winzer herstellen, sind in lebhafter Zunahme begriffen.

Aber wenn nun auch im Laufe dieser Abhandlung konstatiert werden wird, daß das System der natürlichen Reinzucht keineswegs bestimmt sein kann, dasjenige der künstlichen Reinzucht zu verdrängen, so möchte ich doch die Behauptung aufstellen, daß in seiner Ausführung die organische Weiterentwickelung der künstlichen Reinzucht steckt; daß, nachdem diese den Sieg definitiv in den Gärungsgewerben erlangt hat, nunmehr ihre Ergänzung durch die natürliche Platz zu greifen hat. Konnte man sagen, daß die künstliche Reinzucht, fest in sich abgeschlossen, wie Athene aus dem Haupt des Zeus, in die Welt trat: so birgt die natürliche Reinzucht in sich ein ungeheures Arbeitsfeld, welches immer neue Seiten bietend, die Forscher anregen und erfreuen wird; denn es handelt sich nun nichts anderes, als die gesamten Lebens- und Kulturbedürfnisse jeder einzelnen Art und Unterart daraufhin zu prüfen und zu vergleichen, wie sie ausgenutzt werden können, um im Kampf ums Dasein der zu bevorzugenden Rasse zum Siege zu verhelfen und sie zu befähigen, offensiv vorgehend den Feind aus dem Felde zu schlagen.

Das Gebiet, welches zu beackern ist, kann nun keineswegs als ein an sich neues angesehen werden, es ist vielmehr das älteste von Praxis wie Wissenschaft unbewußt behandelte und gerade am erfreulichsten ist die Arbeit,

welche sich die einfache Aufgabe stellt, das Altbewährte, Praktische, die Kunst unserer Brauer, Brenner und Winzer, die Tradition im Gewerbe, darauf hin zu prüfen, ob und wie sie in das System der natürlichen Reinzucht einzureihen und im einzelnen naturwissenschaftlich zu begründen ist.

2. Die Gesetze der natürlichen Hefereinzucht.

Ein Versuch.

1. Die „natürliche Reinzucht" ist die Folge der sich durch die Rasseneigenschaften und die gesamten Kulturverhältnisse ergebenden Sonderung der Mikroorganismen, insbesondere der Heferassen, voneinander.

2. Der „natürlichen Reinzucht" steht gegenüber die „künstliche", das ist die durch mechanische Mittel bewirkte Absonderung einer einzelnen Zelle und Weiterentwicklung dieser unter mechanischem Ausschluß der Infektion.

3. Nur die künstliche Reinzucht führt zur absoluten Reinkultur; ihre Erkenntnis ist die Voraussetzung der Erkenntnis der Gesetze der natürlichen Reinzucht, denn nur die erstere gibt die Sicherheit der Rasseneinheit und die Möglichkeit der Identifizierung.

4. Die „natürliche" Reinzucht *kann* die absolute Rassenreinheit ergeben, meistenteils werden aber nur Gruppen von Heferassen mit gleichartigen Eigenschaften ausgesondert.

5. Die Gesetze der natürlichen Reinzucht sind abzuleiten aus dem Hefezuchtverfahren der verschiedenen Zweige der bestehenden Gärungsgewerbe, bei welchen sich im Laufe der Zeiten die Sonderung der Rassen ohne Mitwirkung der künstlichen Reinzucht mehr oder weniger vollkommen vollzogen hat.

6. Die Sonderung der Rassen erfolgt bei der natürlichen Reinzucht:
   a) durch Unterdrückung der unter bestimmten Kulturverhältnissen schwächeren Rasse vermöge schnellerer Entwicklung der stärkeren;
   b) durch als Folge der Kulturverhältnisse und der Rasseneigentümlichkeiten sich ergebende, auch durch den Zeitverlauf bedingte räumliche Sonderung; diese tritt auf als
      α) Lokalisierung (Atmungsfiguren, Beijerincks Niveaubildungen),
      β) Schichtenbildungen nach oben (Ausstoß aus der Nährflüssigkeit),
      γ) Schichtenbildung nach unten (Absitzen aus der Nährflüssigkeit).
   c) Absiebung (Einsetzen einer porösen Scheidewand in sterile Flüssigkeit; aus dem auf der einen Seite der Wand befindlichen Saatgemisch durchdringen bestimmte Rassen (die kleineren Zellen?) die Trennungswand).

7. Die in Betracht kommenden Kulturverhältnisse sind folgende:
   a) Art, Konzentration und gegenseitiges Mengenverhältnis der Nährstoffe;

b) Grad der Lüftung;
c) Anhäufung von Umsatzstoffen:
   α) aus Kohlehydraten gebildet,
   β) aus Eiweißstoffen gebildet;
d) Temperatur (Vegetationstemperatur, Tötungstemperatur);
e) Belichtung;
f) Elektrische Verhältnisse;
g) Hydraulischer Druck;
h) Gasdruck;
i) Mechanischer Druck oder Stoß;
k) Anwesenheit von Reizstoffen oder Giften (Säuren, Basen, Spezifika);
l) Gegenwart oder Abwesenheit von indifferenten Stoffen (treberhaltige, trubhaltige, klare Flüssigkeiten);
m) Leben auf festen Nährböden (Fesselung);
n) Hemmung oder Förderung der Bewegung in Flüssigkeiten (mechanische Rührwerke in den Gärflüssigkeiten);
o) Gleichzeitige Entwicklung von zwei oder mehreren sich gegenseitig unterstützenden Heferassen, oder auch mit Spaltpilzen gemischten Heferassen (Symbiose).

8. Die in Betracht kommenden Rasseneigenschaften sind folgende:
a) Spezifische Lebensenergie, sich zeigend als:
   α) Wachstumskraft,
   β) Gärkraft;
b) Neigung, Spielarten zu bilden (Rukla);
c) Fähigkeit, Dauerformen anzunehmen;
d) Fähigkeit, verschiedene physiologische Zustände anzunehmen;
e) Anpassungsfähigkeit (Effront);
f) Größe und Form der Zellen;
g) Spezifisches Gewicht der Zellen;
h) Neigung zur Konglomerierung, Zoogloeenbildung (Bruch);
i) Neigung zur Bildung großer Sproßverbände;
k) Neigung, Bodensätze von bestimmter Beschaffenheit zu bilden;
l) Neigung zur Haut- und Deckenbildung (Auftrieb); Benetzbarkeit;
m) Fähigkeit, das Vegetationswasser festzuhalten;
n) Spezifische Gärwirkung (Bildung bestimmter Umsatzstoffe aus den Nahrungsmitteln);
o) Bewegungsfähigkeit (bedingt durch Gasentwicklung und Gärungsenergie);
p) Fähigkeit, besondere Verteidigungsgiftstoffe auszusondern;
q) Fähigkeit, an sich unverdauliche Nährstoffe durch Enzymwirkung verdaulich zu machen;

r) Empfindlichkeit (bezüglich der unter 7) angegebenen Kulturverhältnisse und zwar
α) in bezug auf Auskeimung,
β) in bezug auf Wachstum,
γ) in bezug auf Gärtätigkeit.

3. Zur Begründung und Anwendung der natürlichen Reinzucht.[1])

Ich kann hier nicht die Begründung der Gesetze der natürlichen Reinzucht in dem Sinne in Aussicht stellen, daß ich systematisch die vorstehende Sammlung durchspreche; einesteils fehlt dazu der Raum; es würde die Behandlung dieses Stoffes ein artiges Büchlein ergeben.

Solche systematische Arbeit würde, heute schon ausgeführt, doch auch einförmig werden, auch nicht befriedigen, denn sie müßte an vielen Stellen Vermutetes an Stelle der Tatsachen setzen. Eine nützliche Tätigkeit wäre es freilich, denn sie würde aufweisen, welche Arbeitsgebiete noch unaufgeschlossen vor uns liegen.

Doch zur Sache:

Die natürliche Reinzucht im Brennereigewerbe.[2])

Ich stelle diese Betrachtung an die Spitze, weil die hier betriebene Hefezucht, wie auch schon oben angedeutet, die einfachste Form der natürlichen Hefereinzucht bildet.

Um den Lesern der Wochenschrift ein deutliches Bild zu geben, wird es notwendig sein, zunächst die Brennereihefezucht zu beschreiben.

Bereitung der sogenannten Kunsthefe im Brennereigewerbe.

In der Brennerei kommen nicht Würzen, sondern treberhaltige Maischen zur Gärung. Diese dienen auch zur Hefezüchtung.

In der Brennerei sind zwei Gärräume vorhanden: der erste, die Hefekammer, zur fortlaufenden Züchtung der Hefe, der zweite, Hauptgärraum, enthaltend die großen zur Vergärung der Brennereimaische bestimmten Gärbottiche.

Die Fortpflanzung der Hefe geschieht in folgender Weise:

In den offenen hölzernen Hefegärgefäßen, welche $^1/_{12}$ des Inhaltes der Hauptgärgefäße ausmachen, wird die Hefemaische bereitet.

Rohstoff: Malz (meist Grünmalz), Roggen oder Maisschrot oder gedämpfte Kartoffelmasse. Abmaischtemperatur 51° R.

Diese Hefemaische bleibt 20 Stunden unter Selbstabkühlung bis auf

[1]) Vielfach können zur Beleuchtung dieser Fragen die Versuche Hansens über die Konkurrenz der Heferassen herangezogen werden. Ferner mag auch auf die Kontroversen Effront-Jörgensen und van Laer-Jörgensen hingewiesen werden.

[2]) Die ersten hierhin gehörigen Ausführungen machte der Brennereiverwalter Hesse (Zeitschrift für Spiritusindustrie 1892, S. 69).

38° R. stehen. Hierbei entwickelt sich der Milchsäurepilz, die Hefemaische wird sauer; sie heißt jetzt „saures Hefegut"; Säuregehalt = 2—3 ccm Normal-Natron auf 20 ccm Maischfiltrat = 1,0 p(St. Milchsäure. Das saure Hefegut wird auf 60° R. wieder angewärmt (der Milchsäurepilz wird auf diese Weise geschwächt) und später abgekühlt auf 15° R., sobald mit Hefe angestellt werden soll.

Kühlzeit $^1/_2$ Stunde.

Anstellhefe: aus Preßhefefabriken bezogene Bäckerhefe, auf 100 Liter saures Hefegut 1 kg gepreßte Hefe.

Gärzeit 20 Stunden, Vergärung von 25 p(St. Saccharometeranzeige auf 5 = 80 p(St. scheinbarer Vergärung; Erwärmung von 15° R. auf 25° R.

Die Hefe heißt nunmehr reif; zwei Drittel der noch gärenden Maische werden den zu gleicher Zeit fertig gewordenen der Spiritusgewinnung dienenden großen Maischen im Hauptgärraum zugesetzt, ein Drittel wird zurückbehalten, um inzwischen neubereitetem, saurem Hefegute als Mutterhefe zugegeben zu werden.

So wird die Hefe Kampagnen durch fortgepflanzt; bei Betriebsunterbrechungen im Sommer wird ein Teil der Mutterhefe in zugelöteten Blechbüchsen im Eiskeller aufbewahrt.

Die als Anstellhefe benutzte Bäckerhefe ist ein Gemisch von Heferassen, hat auch wohl manchmal einen Zusatz von Bierhefe erhalten. Die aus ihr gewonnene „Kunsthefe" erreicht ihre volle Kraft durch Aussonderung dem Saatgut anhaftender schädlicher Spaltpilze und untüchtiger Heferassen, nachdem sie etwa sechsmal durchgegangen ist.

Welche Gesetze der natürlichen Reinzucht stehen hier in Anwendung?

1. Es werden nicht Würzen, sondern treberhaltige Maischen verwendet; die Hefe wächst unter Anregung durch indifferente Stoffe, sie setzt sich nicht, sondern bleibt verteilt, es ist eine gemäßigte Bewegung vorhanden.

2. Gelüftet wird nicht; der Sauerstoff, welcher der Hefe zu gute kommt, beschränkt sich auf dasjenige Quantum, welches von dem gekühlten sauren Hefegut aus der Luft aufgenommen wird und beim Einrühren der Preßhefe oder Mutterhefe zutritt. Die Entwickelung von Kahm- und Essigpilz ist hierdurch ausgeschlossen.

3. Durch die Gegenwart der Milchsäure werden Brauereihefen und Fäulnispilze zurückgehalten.

4. Die Temperaturen sind hohe; die entsprechenden Heferassen werden gefördert.

5. In der Mutterhefe ist durch die hohe Vergärung ein Alkoholgehalt von 11 p(St. erzeugt; da ein Drittel der Mutterhefemaische zur Fortpflanzung mit zwei Drittel saurem Hefegut gemischt wird, so ist bei der Neuanstellung der Hefe ein Alkoholgehalt von $3^1/_2$ Vol.-p(St. vorhanden.

Die Hefe wächst und gärt immer in Gegenwart großer Mengen Alkohol,

prozentisch mit derjenigen beginnend, mit welcher im Brauereigewerbe die Gärung beendet wird.

Alle Hefen, welche einen hohen Alkoholgehalt nicht ertragen können, ebenso eine große Zahl von Spaltpilzen, werden ausgeschlossen.

Die meisten Operationen sind in ihrer Wirkung völlig klar und sicher, fraglich erscheint nur, ob die Anwendung von Maischen statt Würzen eine Bedeutung hat, ob die geringe Lüftung etwa auch bestimmte Heferassen ausschließt.

So ist es denn auch Herrn Dr. Munsche gelungen, aus einer Hefenmischung, welche aus der Brennerei-Heferasse II und einer Brauereibetriebs-Heferasse Typus Frohberg (Nr. 385 unserer Sammlung) der Versuchsbrauerei bestand, nach viermaliger Führung die Brauereihefe vollkommen zu beseitigen.

Dabei waren die Versuchsbedingungen keineswegs so, daß die Brauereihefe zu Grunde gehen mußte; als Reinzucht, unter gleichen Umständen angewendet, hat sie sich wohl als nicht leistungsfähig erwiesen und ist degeneriert, ist aber keineswegs abgestorben.

In der Konkurrenz beider Heferassen ist die eine vermöge der ihr angepaßten Kulturbedingungen vollständig als Siegerin hervorgegangen. Sie wird daneben auch wohl noch ein stärkeres Sproßvermögen besessen haben; es kann auch sein, daß sie Umsatzstoffe erzeugt, welche für die Brauereihefe spezifisch giftig sind; der Hauptsache nach aber ist die Wirkung meines Erachtens dadurch erzielt worden, daß die Brauereihefe den hohen Säure- und Alkoholgehalt nicht ertragen kann.

Und nun wird man mit Recht fragen, ist die Reinhefe System Hansen im Brennereigewerbe notwendig?

Diese Frage ist ohne weiteres zu bejahen, denn es hat eine umfangreiche statistische Aufnahme in den deutschen Brennereien ergeben, daß trotz dieser „natürlichen Reinzucht" in den Brennereien tatsächlich mangelhafte Heferassen benutzt werden.

Der Grund hierfür ist darin zu suchen, daß nicht überall mit Sicherheit die vorhin aufgestellten Regeln beobachtet werden. Ferner aber ist eben vielfach in den bezogenen Saathefen und Preßhefen eine wirklich leistungsfähige Heferasse überhaupt nicht vorhanden, konnte also auch nicht ausgesondert werden.

Allerdings ist zu konstatieren, daß in wirklich gut geleiteten Brennereien durch Ersetzung der vorhandenen Hefe durch Rasse II große Erfolge nicht errungen sind, trotzdem sind gerade diese Brennereien in der Anwendung der Reinhefe vorangegangen, weil sie sofort den ungeheueren Vorteil der Sicherheit, immer die bestimmte Rasse beziehen zu können und damit der Macht des Zufalls entrissen zu sein, erkannten. Das „künstliche System" ist also nicht zu entbehren, es ist aber nichts wert, wenn es nicht durch das natürliche ergänzt wird: die Möglichkeit der Infektion durch

Hefe-, Kahm- und Spaltpilze ist in den Brennereibetrieben, besonders kleineren, eine so große, daß eine reine Aussaat, wenn man nicht versteht, sie rein zu halten, und wenn man nicht versteht, Verunreinigungen wieder hinauszuwerfen, ohne jegliche Bedeutung wäre.

Die natürliche Reinzucht in der Preßhefefabrikation.

Die Preßhefefabrikation arbeitet nach zwei Verfahren, nach dem alten, bei welchem treberhaltige Maischen zur Gärung gestellt und der sich auf deren Oberfläche abscheidende Hefeschaum gesiebt, gewaschen und schließlich abgepreßt wird, und nach dem neuen, bei welchem mittels Läuterbottich eine Würze gezogen, diese mit Preßhefe zur Gärung gestellt und während der achtstündigen Gärung mit einem heftigen Luftstrom durchblasen wird. Nach der Gärung wird die ganze Flüssigkeit auf Schiffe gebracht, die Hefe setzt sich, die Flüssigkeit wird abgelassen, der Hefesatz gewaschen und gepreßt[1]).

Bei dem alten Verfahren wird jede Gärung entweder mit Preßhefe aus einer vorhergehenden Maischung oder mit Kunsthefe gemäß der Darlegung im vorhergehenden Abschnitt angestellt. In dieser Industrie wird der Säuregehalt in der Kunsthefebereitung noch höher genommen, wie früher angegeben, auch die Kunsthefe-Maischkonzentration steigt bis auf 28 pCt. am Saccharometer und höher.

Dies ist die Stätte, an welcher bisher die natürliche Reinzucht für die übrigen Brennereien betrieben wurde, denn die aus ihnen hervorgehende Bäckerhefe war zugleich die Stellhefe für die Brennereien. Diese alten Betriebe wechselten wohl auch gelegentlich ihre Saathefe, notwendig wurde der Wechsel, wenn die Kunsthefebereitung wegfiel und statt dessen direkt mit selbstgewonnener Preßhefe angestellt wurde. Denn die Gärung der großen Maische, aus welcher die als Preßhefe gewonnene Hefe sich ergab, stellt keineswegs ein Verfahren der natürlichen Reinzucht dar: diese Maischen haben nur eine Konzentration von höchstens 14 pCt. am Saccharometer bis herab auf 10 pCt., der ihnen gegebene, meist mit Schwefelsäure hergestellte Säuregrad beträgt nur 0,3—0,4 ccm Normalnatron auf 20 ccm Maischfiltrat. So fehlt in diesem Falle die schützende Wirkung des hohen Säuregehaltes und des Alkohols: es können sich leicht weniger gärkräftige Hefen an der Vermehrung beteiligen; jedenfalls findet eine Ausscheidung untüchtiger Hefen nicht statt.

Noch schlechter steht die Sache der natürlichen Reinzucht bei dem neuen Verfahren. Der Schutz des Alkohols und der Säure in den 10prozentigen Würzen fehlt; es kann auch eine Kunsthefemaische keine Verwendung finden, denn die Treber aus dieser Würze würden ja die Gewinnung der Hefe durch einfaches Absetzenlassen unmöglich machen. Es ist daher notwendig, mit Preßhefe, und zwar aus dem eigenen Betriebe

[1]) Ich habe dies Verfahren genauer beschrieben und begründet als System der Schnellgärung in meinem Vortrage auf dem Hamburger Brauertage.

die Gärungen anzustellen; denn jedesmal neue Stellhefen aus anderen Fabriken zu beziehen, würde zu teuer werden. Die Folge ist aber eine sehr schnelle Verunreinigung der Hefe, die zunächst notwendig macht, die zugeführte Luft zu filtrieren; aber auch dies gewährt eine Sicherheit nicht; die Lufthefefabriken — wegen der starken Lüftung so genannte Anstalten — sind gezwungen, fortgesetzt neue Stellhefe zu beziehen, oder zwei Fabriken — *eine nach altem, eine nach neuem* Verfahren — nebeneinander zu betreiben und aus der letzteren die Stellhefe zu nehmen, — oder endlich, und dies scheint das rationellste, die Stellhefe aus Reinzuchtapparaten, wie in den Brauereien, zu ziehen. Gerade dies Beispiel ist äußerst instruktiv: die Verunreinigung, die hier sich ausbildet, besteht hauptsächlich aus Kahmhefen, die wegen des starken Luftzutrittes schnell zur Entwickelung kommen; in einzelnen Fällen ist von uns ein Kahmgehalt von 30 pCt. konstatiert worden.

Die Verunreinigung würde noch stärker sein, wenn nicht durch *sehr starke Aussaat und durch die Bewegung* während der Gärung die Reinhaltung unterstützt würde. Besser werden die Resultate, wenn nicht frische Luft, sondern die aus den eigenen Bottichen stammende Kohlensäure von einer Pumpe angesogen und als Bewegungsmittel durchgeblasen wird.

Natürliche Reinzucht im Brauereibetriebe.

Hier haben wir es mit einem durchaus anderen Verfahren zu tun: die Gärungsführung soll nicht nur Bier liefern, vielmehr auch die Stellhefe für die nächste Gärung; der Brauer ist also, indem er seine Gärungen anstellt, immer zugleich Hefezüchter.

Im Brennereibetriebe war man genötigt, eine besondere Hefeführung in besonderem Gärraum durchzuführen: in den Brauereien soll, da doch die Konzentration der Bierwürzen, ihr Gehalt an Säure, der Vergärungsgrad und sofort sich nach dem Charakter des zu erzeugenden Bieres und nicht nach dem Bedürfnis der Hefe richten müssen, die Reinhaltung der Hefe gewissermaßen nebenbei betrieben werden.

Welches sind nun hier die Mittel der natürlichen Reinzucht?

Zunächst gibt die Anwendung des Hopfens einen gewissen Schutz gegen einzelne Spaltpilze, vielleicht in der obergärigen Brauerei auch gegen gewisse Hefen.

In der *Weißbierbrauerei* kommt hinzu die Wirkung des Milchsäurepilzes. Dieser bekanntlich immer in der Weißbierhefe vorkommend und dem Weißbier durch Bildung für den Geschmack wesentlich in Betracht zu ziehender Menge Milchsäure einen Schutz gegen die Entwickelung von Fäulnisorganismen — Buttersäurepilz ꝛc. — gewährend, darf als mit Hefe in Symbiose arbeitend betrachtet werden. Die geringen Mengen Hopfen, welche verwandt werden, dürften schwerlich zulässig sein, wenn nicht gerade der nach *Hayduck* am stärksten durch diesen beeinflußte Pilz hier absichtlich zu-

gelassen würde. Auch die im Laufe der Zeiten erfolgte Aussonderung der Weißbierhefe aus ihren zahlreichen Kollegen der obergärigen Brauerei wird, abgesehen von der eigentümlichen Ernährung durch Weizenmalz, bedingt sein durch den Säuregehalt[1]) resp. die lebendige Mitwirkung des Milchsäurepilzes. Ich schließe dies daraus, daß die Weißbierhefe eine gewisse Ähnlichkeit hat mit den Brennereihefen: sie vermag in konzentrierten Zuckerlösungen eine ungemein starke Vergärung hervorzubringen; sie ist also fähig, große Mengen Alkohol zu ertragen; bei vergleichenden Versuchen im Laboratorium, die seinerzeit bei uns ausgeführt sind, ergab sich sogar, daß sie zahlreichen aus dem Brennereibetrieb stammenden Rassen überlegen war, so daß ein — allerdings mißlungener — Versuch gemacht wurde, sie im Brennereibetrieb praktisch auszunutzen. Herr Dr. Heinzelmann hat hierüber im Jahre 1890 S. 133 in der Zeitschrift für Spiritusindustrie berichtet.

Merkwürdig bleibt immerhin die Reinheit dieser Hefen: Herr Dr. Schönfeld hat Untersuchungen in der Praxis ausgeführt und konnte konstatieren, daß jedenfalls wilde Hefen im Weißbierbrauereibetriebe keine erhebliche Rolle spielen, wahrscheinlich auch nicht beim Reifen dieses Bieres auf der Flasche. Im übrigen vollzieht sich die Reinhaltung der Hefe durch Schichtenbildung, ebenso wie bei den andern obergärigen Brauereibetrieben. Indem bestimmte Hefentriebe vorzugsweise zur Fortpflanzung der Gärung verwendet werden, wird man bestimmte Heferassen allmählich aussondern, denn die einzelnen obergärigen Heferassen unterscheiden sich auch dadurch voneinander, daß sie zu verschiedenen Zeiten, durch bestimmte mechanische, übrigens noch nicht genügend erkannte Verhältnisse dem Auftrieb verfallend, von der Oberfläche als Hefeschaum abgenommen werden können. Die obergärigen Hefen geben, wenn sie früh aufgetrieben werden, eine sehr geringe Vergärung. Diese Erscheinung ist keineswegs dadurch bedingt, daß eine solche Hefe mangelhafte Gärkraft besitzt, wie Dr. Windisch in einem Falle nachwies; eine betreffende Hefe, im Laboratorium untersucht, vergor vielmehr eine obergärige Bierwürze durchaus normal, während sie, in der Praxis sich anders entwickelnd, aus der Flüssigkeit frühzeitig durch den Auftrieb bei einem Vergärungsgrad von etwa 30 pCt. ausgeschieden wurde.

Die Befreiung der Sätze von Untergärungshefen vollzieht sich in der Weise, daß letztere eben zu Boden gehen. Die Angewohnheit mancher Brauer, die Bodenhefe mit der Oberhefe zu mischen und diese Mischung als Stellhefe zu benutzen, scheint mir ein arger Mißgriff zu sein; auf diese Weise wird eine Anreicherung mit Untergärungshefen hervorgerufen, welche früher oder später zu einem Hefewechsel führen, jedenfalls Unsicherheiten in in der Beschaffenheit der gewonnenen Saathefe hervorbringen muß. Das

[1]) Daß Weinsäure einen Einfluß bei dem Kampfe der Heferassen gegeneinander ausübt, hat schon Hansen nachgewiesen.

Sonderungsverfahren der obergärigen Brauereien durch Schichtenbildung liefert natürlich nur geringe Verteidigung gegen die Entwickelung von Spaltpilzen und Kahm — es ist auch unzweifelhaft, daß diese Brauereien, wie vielfach nachgewiesen und wie neuerdings auch wieder durch unsern Herrn Dr. Schönfeld konstatiert wurde, mehr unter Infektion dieser Art als durch Einschleichen ungeeigneter Heferassen leiden. Die Mitwirkung besonderer Nachgärungshefe konnte Schönfeld nicht konstatieren. Diese Verhältnisse sind auch die Ursache, daß die Verwendung von Reinhefe für Obergärung nicht die Bedeutung hat, welche ihr für Untergärung zukommt, denn wo einmal eine gute Heferasse, Reinhefe, eingeführt ist, wird sie sich gegen wilde Hefe von selbst rein erhalten — siehe auch die diesen Punkt betreffenden Ausführungen im nächsten Abschnitt. Die Gründe liegen nicht nur in der Natur der obergärigen Hefe, vielmehr auch in den Gärungstemperaturen.

Ein Hefewechsel wegen Infizierung durch wilde Hefe wird sich also selten notwendig zeigen; die Hilfen gegen andere Infektionen (Kahm, Spaltpilze) liegen auf anderen Gebieten; hier müssen weitere Gesetze: Vermeidung der „toten Punkte", große Mengen Stellhefe und zugleich die aseptische Methode herangezogen werden.

Die untergärige Brauerei.

Zwei Fragen interessieren vorwiegend und verdienen bei dem gegenwärtigen Stand der Reinhefetechnik in der Tat eine ernsthafte Betrachtung, nämlich:

1. Ist es möglich, durch Anwendung der Regeln der natürlichen Reinzucht eine mit wilder Hefe infizierte Kulturhefe von der ersteren wieder zu befreien?

2. Ist es möglich in der gleichen Weise Kulturheferassen voneinander zu trennen?

Man wird je nach freierer oder unfreierer Stellung in der Reinhefe-Frage von vornherein zu bejahen oder zu verneinen bereit sein.

Mich dünkt nun, daß man auch ohne neue Forschung, lediglich in Erwägung der zur Verfügung stehenden gärungs-technischen Erfahrung den die Bejahung nahe legenden Gründen das Übergewicht zuerkennen konnte. Man ist darüber einig, daß es auch vor Einführung der Reinzucht gelungen ist, durchaus feine Biere zu erzeugen; die Annahme, daß dieser frühere glückselige Zustand lediglich dadurch verloren gegangen sei, daß man zum Sommer- und Herbstbetrieb übergegangen ist und damit die dieser Jahreszeit eigentümliche Infektion dem Biere zugeführt habe, ist nicht haltbar, denn noch jetzt arbeiten nicht wenige Brauereien ohne Hefereinzucht und setzen mit dem Betriebe keineswegs in der gefährlichen Jahreszeit aus. Man wird richtig urteilen, wenn man annimmt, daß es in der Tat möglich ist, auch ohne Hefereinzucht eine Hefe rein zu erhalten, und da sie doch

einmal verunreinigt gewesen sein muß, durch konstante richtige Behandlung zu reinigen.

Die Möglichkeit so zu arbeiten ist im Wachsen begriffen, denn in dem Maße, wie das Kühlschiff der Rumpelkammer zugeführt ist und die Technik der Desinfektion von Gärgefäßen und Rohrleitungen vorgeschritten ist, verschwindet auch die Gefahr der Infektion.

Worin liegen aber dann die Vorzüge der Reinhefe, deren Anwendung tatsächlich keineswegs in der Abnahme, vielmehr in fortgesetzter Zunahme begriffen ist; sie liegen in der Sicherheit des Betriebes. Sicherheit sowohl in der Erzeugung bestimmten Geschmackes und Vergärung unter bestimmten Betriebsverhältnissen und der Möglichkeit, mit Hilfe systematisch fest bestimmter Regeln nach den Ursachen etwaiger Mißerfolge zu forschen, und endlich diese, wenn sie in der Unreinheit der Saathefe gefunden sind, auf einen Schlag durch Anwendung einer aus sicherer Quelle bezogenen Originalreinkultur zu beseitigen.

Ich hebe die unzerstörbaren Vorzüge der Reinhefe hervor, um von vornherein das Gebiet, um dessen Diskussion es sich handelt, abzugrenzen. Es handelt sich auch hier nicht um die Frage, ist die Reinhefe etwa zu ersetzen, ist sie überflüssig geworden? Diese Frage ist für mich nicht diskutabel, sie ist ein für allemal zu Gunsten der Reinhefe entschieden.

Die Frage ist vielmehr die, wie die Segnungen der Reinkultur weiter zu vervollkommnen und auszubauen sind. So war für mich die Situation, als ich beschloß, in das experimentelle Studium einzutreten. —

Dies zur Erörterung der Möglichkeit, ob Umstände im üblichen Brauereibetrieb vorliegen, welche gestatten, im laufenden Betriebe ein Saat-Gemisch von wilder und Kulturhefe zu sondern.

Die zweite Frage betrifft die Sonderung der Kulturhefen untereinander.

Auch hier führen die Erfahrungen zu dem gleichen Resultate, es hat auch vor der Reinhefe im praktischen Brauereibetrieb Hefen gegeben, welche einen erheblich verschiedenen Vergärungsgrad erzeugten; auch vor der Hansenschen Epoche war nachgewiesen, daß der stärkste Einfluß auf den Vergärungsgrad durch die Auswahl der Stellhefe ausgeübt werden könne. Ich erinnere in dieser Beziehung nur an die vortreffliche Schultzesche Arbeit[1]) aus dem Jahre 1876, in welcher nachgewiesen wird, daß in derselben Bierwürze mit verschiedenen Hefen Differenzen im Vergärungsgrad bis zu 20 pCt. zu erzeugen waren.

Ich nehme geradezu an, daß es in der Praxis immer schon Hefen vom Typus Saaz und Hefen vom Typus Frohberg gegeben hat, und zwar in dem Grade der Reinheit, daß sie ihre typischen Vergärungsgrade, wie sie von uns bekannt gegeben sind, erzeugten.

1) Lintners „Bayerischer Bierbrauer" Band XI, und Lintners „Lehrbuch" 1878, S. 458.

Verdanken sie ihre Sonderung voneinander lediglich dem Zufall, oder liegen in bestimmten Brauereibetrieben etwa Methoden der Gärungsführung vor oder Verfahren bei Gewinnung der Saathefe, welche die Sonderung geradezu mit Naturnotwendigkeit eintreten lassen mußten?

Welches sind nun hier die vorzugsweise in Betracht kommenden Regeln der natürlichen Hefereinzucht?

Welchen Einfluß hat die niedere Gärtemperatur?

Meine Erfahrungen hierüber lehren, daß die niedere Gärtemperatur kein Mittel ist, um Kulturhefen von wilden Hefen zu trennen; im Gegenteil muß in der niederen Gärtemperatur der untergärigen Brauerei geradezu die Ursache der vielfachen und beklagenswerten Infektionen mit wilden Hefen gesucht werden.

Hierfür hat Herr Dr. Munsche den direkten experimentellen Beweis erbracht.

Bei Zimmertemperatur (11° R.) gelang es, aus einem Gemisch, bestehend aus 90 pCt. (dem Gewicht nach) Frohberg und 10 pCt.[1]) einer in der Versuchsbrauerei vorkommenden wilden Hefe, nach dreimaliger Umzüchtung den Gehalt an wilder Hefe auf 0,9 pCt. herunterzudrücken.

Ein zweiter in gleicher Weise angestellter Versuch ergab nach dreimaliger Umzüchtung die Hefe Frohberg vollkommen befreit von wilder Hefe.

Die Versuchsbedingungen in der Weise geändert, daß statt Zimmertemperatur die Temperatur des Gärkellers (3—4° R.) angewendet wurde, ergab das Gegenteil: der Gehalt an wilder Hefe sank nicht, erhob sich vielmehr sehr schnell auf 30,7 pCt., auf 37,5 pCt. und in einem Falle auf 59,7 pCt.

Hefe Saaz konnte bei einer Gärtemperatur von 7° R. gleichfalls von dem ursprünglichen Gehalt von 10 pCt. wilder Hefe vollständig befreit werden.

Daß das Gesetz der Temperaturwirkung auch für die Verhältnisse der Praxis Geltung hat, schließe ich aus mehrfachen Gründen.

Von alter Zeit stammt die Behauptung, daß die böhmischen Brauereien gezwungen seien, die Hefe vielfach zu wechseln, und geneigt wären, sie durch aus Bayern bezogene zu ersetzen.

Als Grund wurde angegeben, daß die übliche sehr kalte Gärtemperatur die Hefe degenerieren lasse; ich nehme an, daß diese Degeneration im Überwuchern von wilder Hefe bestanden hat. Die bayerische Hefe wird reiner gewesen sein, weil dort die Gärungen durchschnitttich wärmer geführt werden.

Eine höchst merkwürdige alte Notiz findet sich von Lintner sen. im „Bayerischen Bierbrauer" (1871, S. 14 und S. 64).[2])

1) Entsprechend einem Zellenverhältnis von 82 : 18.

2) Ich habe das vorhandene literarische Material bezüglich der hier einschlagenden Fragen in ziemlich umfangreicher Weise (mit dem Jahre 1842

Es war die Zeit, wo die Reeßschen Arbeiten die Gedanken beschäftigten.

Es wird angegeben, daß zu kalte Temperatur der normalen Bierhefe schädlich sei, daß durch sie das Überwuchern anderer Alkoholgärungspilze hervorgerufen werde. Es wird erzählt, daß eine aus Rostock stammende Bierhefe zum großen Teil aus Saccharomyces exiguus bestanden habe, und daß es gelungen sei, diese Infektion durch Herführen bei hoher Temperatur zu beseitigen.

In amerikanischen Brauereien, bei denen ein Wechseln der Hefe, wie mir scheint, seltener vorkommt als in Deutschland, ist durchschnittlich die Gärtemperatur höher als in Deutschland. Man stellt wohl etwas wärmer an, läßt die Temperatur getrost auf 8 und 9° R. steigen.

Die Infektion mit wilder Hefe zeigt sich bei fallender Gärung. Ein Grund hierfür ist das Absetzen der Hauptbefe, ein anderer aber ist der, daß nunmehr längere Zeit sehr niedere Temperaturen herrschen.

Endlich: die Infektion mit wilder Hefe ist selten schlimm im Gärbottich; man kann hier vollkommen normale Verhältnisse haben; die Stellhefe, auch die abgesetzte Hefe, auch das Bier, welches geschlaucht wird, ist rein, aber hier im Lagerkeller, vielleicht infolge einer Infektion in dem Bierschlauch, entwickelt sich die wilde Hefe bei einer Temperatur von vielleicht 1° R.

Mit einem Wort, die für die untergärigen Brauereien gefährlichen wilden Hefen sind diejenigen, welche charakterisiert sind durch die Fähigkeit, sehr tiefe Temperaturen zu ertragen und sich auch bei diesen zu vermehren.

Die Gepflogenheit mancher Brauereien, die Lagerkellertemperatur keineswegs zu tief zu halten, kann hiermit zusammenhängen.

Eine diese ganzen Verhältnisse in höchst origineller Weise beleuchtende Abhandlung findet sich in der „Allgemeinen Braumeister-Zeitung" unter der Bezeichnung „Reines Untergärungsverfahren" von dem Braumeister M. Grünwald, Swyrany.[1])

Diese Abhandlung erscheint mir so interessant und wichtig, daß ich sie dem wesentlichen Inhalt nach in der Wochenschrift zum Abdruck bringen werde.

Das Prinzip des Grünwaldschen Gärverfahrens ist, daß die Hefe bei 12° R. hergeführt wird, die Anstellungstemperatur 10° R. beträgt, und daß nunmehr ein allmähliches Abkühlen folgt, so daß während der Wachstumsperiode der Hefe[2]) eine Temperatur herrscht, welche der Kulturhefe die angenehmere ist.

beginnend) durchblättert, aber herzlich wenig Beiträge gefunden. Die freundlichen Leser dieser Abhandlung würden mich sehr verbinden, wenn sie mich auf etwa übersehene Notizen aufmerksam machen wollten. Auch für die Mitteilung älterer Gärungsverfahren, welche geeignet erscheinen möchten, eigentümliche Heferassen auszusondern, würde ich dankbar sein.

1) Wochenschrift für Brauerei 1893 Nr. 50; 1894 Nr. 1, 2 und 3.

2) Diese liegt, wie durch meinen früheren Mitarbeiter Mohr seinerzeit nachgewiesen wurde, bei der Vergärung von 14 pCt. am Saccharometer bis auf 8 pCt.

Wiederholt möge auch noch einmal werden, daß in den obergärigen Brauereien die wilden Hefen eine sehr geringe Rolle spielen, und zwar offenbar deshalb, weil sie bei der Obergärungstemperatur den Kampf mit der Kulturhefe überhaupt nicht aufnehmen können.

Wie empfindlich gewisse Hefen gegen zu niedere Temperaturen sind, das geht auch aus einer Beobachtung hervor, welche von Dr. Schönfeld in der Versuchsbrauerei gemacht werden konnte. Durch eine Verwechselung wurde vor einigen Jahren eine Brennereihefe in den Brauereibetrieb eingeführt! Das Resultat war eine ungemein mangelhafte Angärung, schließlich aber die Erzeugung eines ganz schönen und haltbaren Bieres; die durchaus an hohe Temperatur gewöhnte Brennereihefe, weit entfernt, eine Krankheitshefe im Brauereibetriebe zu sein, war total zu Grunde gegangen.

Es ist meines Erachtens notwendig, an die praktische Prüfung der Fragen heranzugehen:

1. Ob es nicht zweckmäßig ist, mit den Gärtemperaturen durchweg etwas höher zu gehen.

Ich bin immer dafür eingetreten, weil ich auch aus anderen gärungstechnischen Gründen in dem zu langsamen, bei zu niederen Temperaturen sich vollziehenden Verlauf der Gärung eine Gefahr erkenne.

Von befreundeter Seite bin ich darauf aufmerksam gemacht, daß dann wohl die Entwickelung von Kahmhefe in das Gesichtsfeld der Wahrscheinlichkeit trete. Ich möchte dem jedoch nicht zustimmen; in gewissem Sinne wächst die Gefahr, aber durch die schnellere Gärung, die lebhaftere Bewegung wird an sich die Reinheit der Gärung erhöht; die stärkere Kohlensäureentwickelung hält den Sauerstoff von der Hefe ab und verhütet so die Kahmbildung. Bei fallender Gärung kann man dann ja eine um so energischere Abkühlung eintreten lassen.

2. Es ist eine wissenschaftliche Aufgabe von höchster praktischer Bedeutung, die verschiedenen Heferassen in der Weise zu prüfen, daß ihre Widerstandskraft gegen wilde Hefen bei verschiedenen Temperaturen geprüft wird.

   Diejenige Kulturhefe wird die brauchbarste sein, welche bei niedrigster Temperatur den Kampf siegreich besteht.

3. Das Herführen bei höheren Temperaturen sollte wieder mehr in Übung kommen, oder es sollte beim Drauflassen die erste Würze wärmer angestellt werden. Es wäre weiter zu prüfen, ob das Grünwaldsche Gärverfahren mit allmählich fallenden Temperaturen nicht in der Tat die ernsteste Beachtung verdient.

4. Die Temperatur spielt auch sicherlich eine große Rolle bei der Konkurrenz von Kulturhefen miteinander, auch für diese müßten Konkurrenzversuche mit feineren Temperaturunterschieden angestellt werden.

Die Schichtenbildung.

Der Verlauf des Hefelebens im Gärbottich gestaltet sich wie folgt:

Unmittelbar nach der Anstellung beginnt die Hefentätigkeit; die Hefe setzt sich nicht, die von ihr alsbald entwickelte Kohlensäure genügt, sie schwebend zu erhalten. Zu Boden sinken nur diejenigen Hefezellen, welche nicht mehr genügend Lebenskraft besitzen, oder mechanisch durch Verschmierung mit Hopfenharz an der Gärtätigkeit behindert sind. Aber auch Hefearten, welchen die Ernährungsverhältnisse, das Hopfenharz, die Temperatur, die Lüftungsverhältnisse nicht zusagen, werden zu Boden gehen — diese zusammen mit sich setzendem Trub bilden die Bodenschicht.

Inzwischen entwickelt sich die Hefe, es bilden sich mehrere Generationen neuer Hefe, sie reift, das Stadium der hohen Kräusen ist da, die Hefe beginnt sich zusammenzuballen, Bruch tritt ein und endlich Klärung. Die zweite Schicht, die Kernhefe hat sich gebildet.

Endlich die fallende Gärung: Hefevermehrung findet nicht mehr statt; aber wilde Arten, wenn sie vorhanden sein sollten, welche, nachdem die Haupthefe sich gesetzt, zum Sprossen gelangen, entwickeln sich vermischt mit Zellen der normalen Hefe, welche durch ungenügendes Ballen nicht zum Absetzen gekommen sind, bis auch diese Nachzügler zu Boden gehen, und die dritte Schicht leichter Hefen hat sich gebildet.

Indem nun das Bier abgelassen wird, ist die Hefe in vier Teile zerlegt: der letzte, unreinste, besteht aus den im Bier verbliebenen Zellen; sie werden mit in das Lagergefäß genommen und haben hier die Nachgärung zu besorgen.

Die leichte, auf der Kernhefe sitzende Schicht wird abgeschoben, alsdann wird die Kernhefe zur weiteren Vermehrung entnommen und der am Boden haftende unreine Rest beseitigt.

In diesem System liegt ein Prinzip der natürlichen Reinzucht, welches in der Tat die reinste Hefe zur Fortpflanzung verwendet, aber den unreinsten Teil merkwürdigerweise zur wichtigsten Periode der Gärung, der Nachgärung im Lagerkeller, zuführt. Aber, abgesehen von diesem Fehler: würde nicht die Schichtenbildung benutzt, sondern etwa regelmäßig durch in voller Gärung stehendes Bier die Hefe von einem Bottich auf den anderen übertragen, also eine kontinuierliche Gärung durchgeführt, so würde eine starke Vermehrung der Infektionen eintreten: die Schichtenbildung ist das System der natürlichen Reinzucht.

Sie ist auch zu den Versuchen Dr. Munsches, wilde und Kulturhefe voneinander zu sondern, benutzt worden. Es wird eine Gärung angesetzt, nach 24 Stunden das Bier in ein frisches Gärgefäß vom Bodensatz abgegossen, hier der Gärung bis zur Bildung neuen Hefesatzes überlassen, von diesem Satz das Bier (II) abgegossen und der Satz zur Neuanstellung einer Gärung benutzt. Dieses Verfahren, bei richtiger Temperatur wiederholt, ergibt im Bodensatz die Kulturhefe.

Das Bier II wird der weiteren Gärung überlassen bis zum Setzen der Hauptmasse der Hefe, von dem dann verbleibenden Bier ein Teil zur Anstellung einer neuen Gärung benutzt.

Die mit dem Bier angestellten Gärungen enthalten sehr bald ausschließlich wilde Hefe.

Auf diese Weise läßt sich also ganz mechanisch eine Trennung der Heferassen vornehmen, und zwar bei Gärflüssigkeiten in den geringen Mengen von 1 Liter.

Die Ursachen, daß Hefen verschiedener Rassen sich zu verschiedener Zeit setzen, sind vielgestaltig. Im allgemeinen kann man annehmen, daß die Hefen, welche früh Bruch geben, also sich ballen, auch frühzeitig zum Absetzen kommen. Die Hefen, die früh zum Absetzen kommen, sind aber auch diejenigen, welche festliegen, und gleichzeitig diejenigen, welche einen geringen Vergärungsgrad geben.

Hat man es daher nicht nur mit dem Gegensatz zwischen wilden Hefen und Kulturhefen zu tun, sondern mit dem Kampf resp. der Sonderung von Kulturhefen untereinander, so liegt die Sache so, daß die Kernhefe ihrerseits auch mehrere Schichten Hefe enthält. Zu unterst in ihr liegen die Hefen, welche einen geringen, zu oberst diejenigen, welche einen hohen Vergärungsgrad geben.

Geht man daher in der Praxis so vor, daß bei Abschiebung der leichten Hefe etwas scharf eingegriffen und etwas Kernhefe mitgenommen wird, so muß bei konsequenter Durchführung dieses Systems durch Kampagnen innerhalb der Kernhefe allmählich die Hefe mit geringem Vergärungsgrad das Übergewicht erlangen.

Umgekehrt, wenn nach Abschiebung der leichten die obere Schicht der Kernhefe zur Fortpflanzung verwendet wird, müssen allmählich die Hefen mit hohem Vergärungsgrad vorwiegen.

Diese Wirkung wird um so vollständiger sein, je größer die Gärbottiche sind, je dicker also auch die Hefeschichten und deshalb trennbarer ausfallen, wenn ferner die Gärbottiche mehr hoch als breit sind, und wenn endlich die Gärung ruhig und ungestört, ohne Nachschieben ꝛc. verläuft, so daß die Schichten sich ordnungsgemäß nacheinander bilden können. Zum System wird jedoch erst dann diese Art der natürlichen Reinzucht erhoben, wenn die Gärung nicht in einem Gefäß verläuft, wenn vielmehr durch wiederholtes Umpumpen jeder Schicht ein besonderes Gefäß zum Absetzen überwiesen wird.

Das amerikanische Gärsystem.

Das aber ist das Gärsystem der Amerikaner, und aus der Innehaltung dieses schließe ich, daß dort in der Tat aus Hefengemischen Gruppen von Heferassen mit gleichartigen Eigenschaften zur vorwiegenden Fortpflanzung

gelangen daß sich bestimmte Charaktere herausbilden und von etwa eintretender Infektion auch selbsttätig wieder befreit werden.

Die Kellerei besteht dort aus mindestens fünf Stockwerken übereinander, im obersten der Kühlapparat, im vierten stehen die Anstellbottiche, aus diesen wird das eben ankommende Bier (nach 24—48 Stunden) abgelassen in den dritten Stock, dort verbleibt es bis zum Setzen der Hauptheſe, fast bis zur Endvergärung; von dort wird es abgelassen in die in dem zweiten Stock stehenden Ruhbütten, wo das Absetzen der leichten Hefen erfolgt, und endlich fließt das Bier in die Spanfässer, wo es, mit Kräusen versetzt fertig zum Versand gemacht wird.

Alle Gärgefäße sind von riesigen Dimensionen, so daß die Hefeschichten sehr dicke und daher leicht trennbare werden.

Das Elegante dieser Arbeitsweise liegt darin, daß die Kernhefe im Hauptgärbottich zum Absetzen gebracht wird, daß das Absetzen der leichten Hefen in besonderem Gefäß geschieht, und daß endlich das Bier zum Fertigmachen aufgekräust, d. h. mit der in den Kräusen befindlichen sehr reinen Hefe gewissermaßen wieder angestellt wird.

Des Ferneren ist wichtig, daß bei dieser Arbeit das Bier selbsttätig von Stock zu Stock ohne Mitwirkung von Pumpen fließt, es würden andernfalls sich die Übelstände des Gefäßwechsels und der hierbei möglichen Infektion stark geltend machen; das ist ja überhaupt der wunde Punkt hier, daß die vielfachen Gefäße einer außerordentlich scharfen Kontrolle unterworfen werden müssen; der Vorzug des deutschen „Einbottichsystems" liegt darin, daß das Bier nur zwei Stationen hat, Gärbottich und Lagerfaß.

Übrigens ist das Umpumpen von einem Bottich zum andern ja auch deutsche Mode, und das Arbeiten mit Bruchfaß darf gerade von diesem Gesichtspunkte aus als rationell gelten. Auch bei der Ale-Brauerei spielt das Umpumpen in den Vereinigten Staaten eine große Rolle.

Sehr merkwürdig ist das Einschalten einer fünften Station. In einer amerikanischen Brauerei traf ich das Verfahren, daß die Biere umgepumpt wurden, nicht nach dem Ankommen, sondern nach dem Stadium der hohen Kräusen — so daß hier schon ein Teil der Hefe mit niederem Vergärungsgrad in dem Stellbottich festgehalten wurde. Die Hefen in den Vereinigten Staaten sind für das dortige Standard-Bier hochvergärend, und man erstrebt dort bei sehr hochgehenden Temperaturen, wie ich schon verschiedentlich bemerkte, gleich auf Anhieb möglichst die Endvergärung zu erreichen. Das letztgeschilderte Verfahren bringt denn auch eine hochvergärende Hefe zum Übergewicht.

Um die Hefe möglichst von leichten, keinen Bruch gebenden und wilden Hefen zu befreien, könnte man auch vorschlagen, die Biere vor allzu starkem Durchfallen zu bewahren und sehr grün noch einmal umzupumpen, um so das Absetzen der wilden Hefe gänzlich zu verhindern.

In der Tat soll dieses Verfahren in praktischer Anwendung stehen; so wird mir von einer Münchener Brauerei erzählt, daß sie das Bier ein bis zwei Tage vor dem Schlauchen noch einmal umpumpt; es kann das meines Erachtens nur auf ein unbewußtes Arbeiten auf natürliche Reinzucht erklärt werden.

Hierher gehört auch noch eine Betrachtung über das „grün" oder „lauter" Schlauchen. Wer grün schlaucht, betreibt natürliche Reinzucht; wer lauter schlaucht, nimmt in den Satz die wilde Hefe mit hinein. Wer grün schlaucht, kann unter Umständen den Hefen mit niedrigem Vergärungsgrad den Vorrang geben.

Hefen Saaz und Frohberg.

Natürlich hat auf diese Verhältnisse nicht allein die Fähigkeit, sich zu ballen und Bruch zu geben, einen Einfluß: Lüftungsgrad, infolgedessen auch die Größe der Gärbottiche, trubhaltige oder trubfreie Würze[1]), die Größe der Hefegabe, die Temperaturführung ꝛc. sind ebenfalls von Bedeutung.

Mit einem Wort, wird in der Brauerei konsequent ein bestimmtes Gärverfahren unabänderlich durchgeführt, so muß sich unter allen Umständen, bald schneller bald langsamer, eine Gruppe von Hefen mit gleichartigen Eigenschaften als Kernhefe absetzen und so eine Art Reinzucht, nicht absolut selbstverständlich, entstehen.

Das alles wird aber nun noch unterstützt durch die Beschaffenheit der Würze, durch ihren je nach Rohstoff — Gerstenmalz verschiedener Art, auch Rohfrucht —, je nach Maischmethode, endlich auch Hopfengabe und Kochprozeß verschiedenen Gehalt an Hefenährstoffen. Obgleich die von Hanow und mir gefundene verschiedene Verdaulichkeit der Eiweißgruppen für Hefe Saaz und Frohberg noch nicht unzweifelhaft festgestellt ist — Hanow hat bei Wiederholung der Versuche zu gleichen Resultaten nicht wieder gelangen können —, so ist es mir doch sicher, daß für die einzelnen Heferassen das wesentliche und charakteristische Gruppenmerkmal der Gehalt an bestimmten Enzymen ist.

Die Unterschiede des S. apiculatus, der Hefen Typus Saaz und Typus Frohberg beruhen eben auf ihrem Vermögen, bestimmte Kohlenhydrate in für sie verwertbare Zucker umzuwandeln, auf ihrem Gehalt an voneinander verschiedenen Invertinen. Ebenso wird das Vermögen, Eiweißstoffe abzubauen, verschieden sein.

Diese Verhältnisse, besonders die ersteren, aber bedingen, daß die Gesetze der natürlichen Reinzucht für derartig verschiedene Hefen eine ganz be-

1) Die Gegenwart indifferenter Stoffe: in den Vereinigten Staaten bringt man vielfach den ganzen Trub mit in den Gärbottich; es bildet sich eine sehr dicke, voluminöse Decke, welche erst spät, dann aber sehr sorgfältig und wiederholt abgenommen wird.

sondere Anwendung finden: denn diejenigen Hefen, welche, vermöge ihrer mangelnden Fähigkeit bestimmte Stoffe als Nahrungsmittel aufzunehmen, früher in ihrer Ernährung Not leiden, müssen notwendigerweise in der Vermehrung hinter den stärkeren Genossen zurückstehen.

Hefe Frohberg wird daher unter sonst gleichen Umständen sehr bald das Übergewicht erlangen müssen; denn sie vermag die ganze Isomaltose zur Ernährung zu verwenden, welche Saaz unberührt läßt, sie vermag auch mehr an Eiweißstoffen aufzunehmen.

Ja noch mehr, indem Hefe Saaz lediglich auf den Verzehr von Maltose (die α-Isomaltose lasse ich hierbei unberücksichtigt) angewiesen ist, fehlen ihr nicht nur früher als Frohberg die Nahrungsmittel, sie entbehrt auch des Bewegungsmittels: indem sie Isomaltose nicht vergären kann, entwickelt sie aus sich, nach Verbrauch der Maltose, auch keine Kohlensäure mehr; hat sie zugleich die Fähigkeit, sich zu ballen, so muß sie notwendig früher zum Absetzen kommen. Als allgemeines Gesetz dürfte daher aufzustellen sein:

> Die Hefen vom Typus S. apiculatus, welche nur Traubenzucker zu vergären vermögen, von welchem Stoffe in der Bierwürze nur wenig vorhanden ist, verlieren zuerst die Bewegungsfähigkeit und setzen sich.
>
> Dann folgen die Hefen, welche Traubenzucker und Rohrzucker zu vergären vermögen, dann diejenigen (Saaz), welche die genannten Zucker und Maltose, auch α-Isomaltose vergären, jetzt erst folgt Typus Frohberg mit der Vergährung bis auf das Dextrin. Zum Schluß kommen die Dextrinhefen, von denen eine mit Bestimmtheit als solche in unserem Laboratorium von Herrn Dr. Rothenbach festgestellt ist.

Versuche des Herrn Dr. Munsche, auf Grund der Schichtenbildung Hefe Saaz und Frohberg zu sondern, sind nicht so vollkommen gelungen wie erwartet wurde, obgleich das Prinzip, daß sich Saaz zunächst setzt, unzweifelhaft festgelegt ist.

Die erste Andeutung hierüber wurde uns bereits vor einigen Jahren, als, wie es in unsern Praktikanten-Kursen üblich ist, Gärungen zu Demonstrationszwecken von Hefe Saaz und Frohberg angestellt wurden. Zur peinlichen Überraschung stellte sich heraus, daß beide Hefen diesmal entgegen hundertfältiger Erfahrung die gleichen Vergärungen ergaben. Der erste Gedanke war der, daß eine Verunreinigung der Hefe Saaz durch Frohberg vorliegen müsse, daß aus diesem Grunde die Gärung der Hefe Saaz zu weit gegangen sei.

Die Sporenbildungsmethode ist nach unsern Erfahrungen hier nicht anwendbar; wir suchten die Entscheidung durch Lindners Riesenkulturen zu gewinnen; doch ergab eine aus dem Bodensatz der Gärflasche mit Hefe Saaz entnommene Probe ausschließlich die für diese Hefe typische Riesenkolonie, während der Bodensatz aus der Gärflasche mit Frohberg auch hier das entsprechende richtige Bild ergab.

Die Entscheidung gelang erst, als ich aus der Saaz-Gärung nicht vom Bodensatz, sondern von den noch schwebenden Zellen eine Kolonie ansetzen ließ. Alsbald zeigte sich der Typus Frohberg, und die Verunreinigung mit dieser war nachgewiesen.

Ich führe dies nur als Beispiel dafür an, daß in der Tat sich Frohberg länger schwebend erhält.

Aus der Praxis hat die Wochenschrift für Brauerei in letzter Zeit mehrfach Beispiele gebracht, daß aus Typen Saaz und Frohberg hergestellte Hefengemische den Vergärungsgrad nicht der stärkeren, sondern der schwächeren Hefe ergeben haben. Diese Tatsache scheint mir mit den hier vorgetragenen Anschauungen nicht in Widerspruch zu stehen.

Durch früheres Absetzen ist eben der Typus Saaz vorwiegend zur Fortpflanzung gelangt.

Ein scheinbarer Widerspruch besteht nur, wenn man erwägt, daß der Typus Frohberg, dem eine längere Frist zum Wachstum gegeben ist, dem auch tatsächlich eine stärkere Vermehrungsfähigkeit innewohnt, als der eigentlich stärkere unterlegen sein soll.

Das ist ja aber gerade die Eigentümlichkeit der natürlichen Reinzucht nach dem untergärigen System der Schichtenbildung, daß gerade der schwächere Teil zum Übergewicht gelangen kann.

Aber die Ursachen liegen noch tiefer: Saaz besitzt in der Tat ein schwächeres Vermehrungsvermögen, wird aber entschädigt durch ein stärkeres Gärvermögen.

In der grundlegenden, unter meiner Leitung ausgeführten Arbeit von Dr. Irmisch[1]) ist nachgewiesen, daß gerade Hefe Saaz eine sehr starke Angärkraft besitzt und erst ganz allmählich von Frohberg eingeholt und dann überholt wird. Diese ihre starke Gärkraft hängt wahrscheinlich mit ihrer geringen Vermehrungsfähigkeit zusammen, denn bei geringer Vermehrung mästen sich die Hefen — siehe Hayducks und meine Ausführungen über diesen Gegenstand —, sie nehmen zu an Stickstoffgehalt und damit auch an Gärkraft.

Nach dem weiteren allgemein gültigen Züchtungsgesetz, daß in starker Gärtätigkeit befindliche Hefe Nebenorganismen nicht aufkommen läßt — die das Hefenwachstum hemmende Kohlensäure, der schnell entstehende Alkohol, wahrscheinlich auch Eiweißumsatzstoffe spielen hier eine Rolle — wird gerade diese Eigenschaft zu einer Fähigkeit der schwachen Hefen, sich gegen Feinde zu behaupten.

Die Schwierigkeit, welche sich bei der Arbeit Munsches, Saaz und Frohberg durch Schichtenbildung im Laboratoriumsversuch zu trennen, herausstellte, beweist mir für den Verlauf in der Praxis noch nichts; denn es ist klar, daß hier Massenwirkung eine große Rolle spielt; die Schwierig-

1) Wochenschrift 1891, 1135 ff.

keit, durch Schichtung zu trennen, wächst mit Verringerung der gärenden Flüssigkeitsmengen. Immerhin führt dies Beispiel dazu, sich doch der Grenzen der Leistungsfähigkeit des Prinzips der natürlichen Reinzucht bewußt zu werden. Man sieht, daß hier zwei Gesetze der natürlichen Hefereinzucht einander entgegenstehen.

Der Frohberg mit stärkerem Sproßvermögen, größerer Kraft, Nahrungsmittel sich dienstbar zu machen, wird die Wage gehalten durch die schwächere, aber den Gegner durch Giftstoffe angreifende Saaz. Möglich ist, daß diese beiden Wirkungen sich so gleichmäßig entgegenstehen, daß die Trennung außerordentlich erschwert wird.

Immerhin bin ich nicht zweifelhaft, daß man bei Benutzung der Temperatur-Empfindlichkeit auch hier schließlich im Kleinen zum Ziel gelangen wird.

Schlußbetrachtung.

Ich habe an mehreren Stellen darauf hingewiesen, daß auch die geschickteste Handhabung der Gesetze der natürlichen Reinzucht nicht imstande sein wird, die künstliche, absolute überflüssig zu machen, noch viel weniger, sie aus dem Gebiete, welches sie bereits besitzt, zu verdrängen. Die in der Praxis auf Grund dieser Mitteilungen zu machenden Beobachtungen werden auch nicht so zahlreich und so schlagend sein, wie sie vielleicht vor einem Jahrzehnt gewesen wären. Denn die absolute Reinkultur hat in den europäischen Brauereien bereits einen derartigen Umfang erreicht, daß es nicht viele natürliche Mischhefen, sofern man nicht absichtlich Mischungen herstellt, mehr geben wird. Durch den üblichen Hefewechsel sind die „Einzellenhefen" überall verbreitet.

Ich nehme als Ziel, daß allgemein der Gedanke Platz greifen möge: Bei ungünstigen Gärerscheinungen, welche auf eine Verunreinigung der Hefe zurückzuführen sind, soll man nicht gleich an den Hefewechsel denken, denn hierbei kommt man vielleicht aus dem Regen in die Traufe. Ich will es gelten lassen, daß man aus einer zuverlässigen Hefezüchtungsanstalt sich eine absolute Reinkultur beschafft; dies Verfahren verdient es, öfter angewendet zu werden, als es zur Zeit geschieht. Ich will auch nichts dagegen einwenden, daß man Hefe zum Wechseln aus einer Brauerei bezieht, welche Reinzucht führt und deren Reinzuchtapparat unter Kontrolle einer Versuchs-Anstalt steht — mehr ist aber auch nicht zu konzedieren: hier heißt es „selbst ist der Mann".

Wie ich früher nachgewiesen habe, kann man durch passende Gärführung einen bestimmten physiologischen Zustand der Hefe herstellen und dadurch Bruch und Vergärungsgrad beeinflussen. Nun kommt eine schneidigere Waffe dazu: die natürliche Reinzucht wird lehren, eine vorhandene Infektion wieder zu beseitigen.

So kommt man dann zu dem stolzen Satz: eine bezogene Hefe darf sich — gute Brauereieinrichtungen natürlich vorausgesetzt — im praktischen Betrieb nicht verschlechtern, im Gegenteil, sie muß durch wiederholte Benutzung reiner und besser werden.

Dies Ziel zu erreichen, dazu möge die vorstehende Abhandlung etwas beitragen; sie wird es bestimmt, wenn die Gedanken in Wissenschaft und Praxis nach diesem Ziele ihre Richtung nehmen und durch ausführliche Beobachtungen die Gesetze der natürlichen Reinzucht klarer und sicherer festgestellt werden, als es hier geschehen konnte. Stoff bietet dieses Kapitel wohl für ein Jahrzehnt.

Unendlich schneller würde aber das Ziel erreicht werden, wenn die Verbindung von Wissenschaft und Praxis noch enger würde, wie es bisher der Fall ist.

Der Gärungsphysiologe im unmittelbaren Dienste der Praxis muß die Parole sein.

Wie können große Brauereien, mit den ungeheuren Risiken, sich dem aussetzen, daß sie Fehler im Betriebe erst dann entdecken, erst dann aufzuklären suchen, wenn die Klagen der Kundschaft kommen, wenn bereits schlechtes Bier da ist!

Leider macht die Anstellung der Gärungsphysiologen nur langsame Fortschritte; eine der hindernden Ursachen ist die, daß man den Mann an die verkehrte Stelle gesetzt hat, daß man ihn gewissermaßen als theoretische Kontrollinstanz zwischen Direktion und Braumeister oder zwischen Besitzer und Braumeister stellte Aus einem solchen Zwitterding kann nie etwas werden. Ohne das Vertrauen des Braumeisters kann der Physiologe zuverlässige Studien nicht machen und auch seinem Vorgesetzten keine sicheren und praktisch wertvollen Berichte erstatten. Der Braumeister ist der technische Leiter der Fabrik, nach seinen Direktiven muß der Physiologe in erster Linie arbeiten; diese beiden Personen müssen von gegenseitigem Vertrauen getragen zusammen arbeiten.

An mehreren großen deutschen Betrieben ist dies der Fall, geradezu klassische Verhältnisse habe ich hierauf bezüglich in den Vereinigten Staaten gesehen, wo z. B. in der Pabst-Brauerei der Braumeister Theurer mit unserem Dr. Fischer in derselben kameradschaftlichen Weise zusammen arbeitete, wie es auch mit Fischers ebenfalls aus unserer Schule hervorgegangenem Vorgänger der Fall war.

Durch diese Vereinigung sind mir gerade die Reiseerinnerungen an Milwaukee so besonders wertvoll geworden.

Von wem muß die Reform ausgehen? Sie kann nur soliden Grund haben, wenn der Braumeister erklärt: ich will und muß zu meiner Unterstützung, als meinen mir verantwortlichen Mitarbeiter den Physiologen haben.

Wenn unsere großen deutschen Brauereien sich hierzu entschließen

wollten, würden, davon bin ich überzeugt, noch unerwartete Vervollkommnungen des Brauereibetriebes schnell zu erlangen sein — die kleineren Brauereien würden den Nutzen davon unmittelbar ziehen, denn der für sie wohl auf die Dauer notwendige Hefenbezug würde auf diese Weise eine Sicherheit, was den technischen Erfolg betrifft, erlangen, welcher zahlreichen Klagen den Boden vollständig entziehen würde. Aber auch kleinere Betriebe werden unter gewissenhafter und sachverständiger Leitung sich zu Musteranstalten, was die Hefenzucht anlangt, entwickeln können; denn hier kann der Braumeister in viel höherem Grade die persönliche Verantwortung für die Beschaffenheit seiner Hefe übernehmen.

Die Ausbildung der Kunsthefebereitung zum natürlichen System der Hefereinzucht.

Vortrag von M. Delbrück auf der Generalversammlung des Vereins der Spiritus-Fabrikanten in Deutschland 1895.

Zeitschrift für Spiritusindustrie, Ergänzungsheft 1895.

Fortschritte im Arbeiten mit Reinhefe, insbesondere

a) die Ausbildung der Kunsthefebereitung zum natürlichen System der Hefereinzucht;

b) die Verwendung Dextrin vergärender Hefen.

Meine Herren! Der großartige Erfolg, den die Reinhefe in der Praxis erzielt hat, hätte nie erreicht werden können, wenn nicht die Fortpflanzung in der Praxis nach dem System der Kunsthefebereitung die Reinerhaltung der Hefe ermöglicht hätte.

Dem Eintreten einer Infektion in der Brennerei stehen so viel Türen zur Verfügung, daß die Reinhefe sich nur rein erhalten kann, wenn durch die Art ihrer Führung etwa eingetretene Infektion auch wieder beseitigt werden kann.

Diese Selbstreinigung muß sich nicht nur vollziehen gegenüber Spaltpilzen, sondern auch gegenüber unbrauchbaren Heferassen. Hiernach würden wir in dem System der Kunsthefebereitung ein System „natürlicher Reinzucht" besitzen.

Daß dem so ist, geht aus der Tatsache hervor, daß unsere Rasse II, wenn auch in den meisten, so doch keineswegs in allen Brennereibetrieben zu Mehrerträgen geführt hat; doch waren in einigen besonders gut geleiteten Fabriken, bei denen die neue Hefe keinen Vorteil brachte, die Gärerscheinungen so, daß man annehmen konnte, es sei in ihnen schon entweder die Rasse II selbst oder eine ähnliche durch „natürliche Reinzucht", aus einem ursprünglichen Hefengemisch ausgesondert worden.

Die Überzeugung, daß es möglich sein müsse, durch Unterstützung leistungsfähiger Heferassen diesen über Konkurrenten das Übergewicht zu verschaffen, wurde in mir gefestigt durch die auf meiner Studienreise in den

Vereinigten Staaten von Nord-Amerika gesammelte Erfahrung, daß das dort seit alters her übliche Verfahren, „wilde" Hefe einzufangen und im Kunsthefebereitungs-Verfahren der Selbstreinigung zu unterwerfen, noch immer im Schwunge und in Großbetrieben üblich ist.

Den Erfahrungen des Brennereibetriebes stehen diejenigen des Brauereigewerbes zur Seite, hier sind aus ursprünglich vorhandenen Hefengemengen durch die jeweilig eigentümliche Betriebsart besondere Gruppen von Heferassen durch die natürliche Reinzucht ausgesondert — so für das obergärige Bier, das Berliner Weißbier, das untergärige Bier. Für letzteres ist es eigentümlich, daß nicht starke Hefen, sondern gerade schwache das Übergewicht erlangen: dies ist für den Brauereibetrieb notwendig, denn dort soll die Gärung nicht bis zu Ende geführt werden; es soll für die Biertrinker noch etwas an Stoff übrig bleiben.

Soweit die theoretischen Betrachtungen: es kam nun darauf an, den experimentellen Beweis zu erbringen; dieses ist uns schnell geglückt, wie die unter meiner Leitung ausgeführten Untersuchungen des Herrn Dr. Munsche erweisen.

Das Natürlichste war, diejenigen Prinzipien, welche in den von uns gemeinsam mit Praktikern ausgearbeiteten Methoden der Kunsthefeführung befolgt werden, anzuwenden und zu versuchen, ob sie geeignet sind, aus einem Hefengemisch, bestehend aus einer schwachen Hefe — als solche wurde eine Bierhefe gewählt — und einer starken — unsere Rasse II — die erstere zu verdrängen.

Die Brennereihefe muß die Eigenschaft haben:

hohe Zuckerkonzentrationen,
hohen Alkoholgehalt,
hohen Säuregehalt,
starke Temperatursteigerungen (12—25° R.)

zu ertragen;

sie muß gegen Spaltpilze und ihre Umsatzstoffe unempfindlich sein,
sie muß mit einer geringen Luftzuführung zufrieden sein —, andernfalls würde sie dem Kahm nicht widerstehen können,
sie muß ferner schnell arbeiten, hauptsächlich vermöge starker Sproßkraft.

Diesen Bedingungen wird die durch das deutsche System der Kunsthefebereitung repräsentierte „natürliche Hefereinzucht" in folgender Weise gerecht:

die Kunsthefemaische wird konzentriert gemaischt,
stark gesäuert,
hoch vergoren
und in der Temperaturspannung von 12—24° R. gezüchtet.

Besonders charakteristisch ist die Ausnutzung des entstehenden Alkohols zur natürlichen Reinzucht; eine von 24° am Saccharometer bis 4° vergärende Kunsthefe hat einen Alkoholgehalt von 11 pCt.; täglich wird dieser

Gehalt in der reifen Hefe erreicht, die gegen Alkohol nicht widerständigen Heferassen müssen zu Grunde gehen. Verstärkt wird die Wirkung durch die Verwendung von Mutterhefe zur Fortpflanzung: die Mutterhefe überträgt ihren Alkoholgehalt auf die Hefemaische; enthält die Mutterhefe 11 pCt. und wird $^1/_3$ des Hefegefäßinhaltes als Mutterhefe verwendet, so ist der Anfangsalkoholgehalt einer mit Mutterhefe angestellten Kunsthefe fast $3^3/_4$ pCt. Die Wirkung des Alkohols auf die Hefe besteht nun im wesentlichen darin, daß die Sproßtätigkeit gehemmt wird; solcher Weise werden also alle Hefen, welchen 3—4 pCt. Alkohol unangenehm sind, von vornherein von der Vermehrung ausgeschlossen. Maischen passender Konzentration wurden im Laboratorium hergestellt, teils stark, teils weniger stark gesäuert: sie wurden mit einem Gemisch von Rasse II und Brauereihefe angestellt; nach sechsmaliger Fortpflanzung zeigte sich die Brauereihefe vollkommen unterdrückt.

Zu einem noch drastischeren Resultat gelangten wir in der Praxis. Mit gütiger Erlaubnis der Besitzerin wurden in der Brennerei zu Marzdorf von Herrn Dr. Munsche, unterstützt durch unsern Freund Hesse Konkurrenzversuche zwischen Brauereihefe und Rasse II ausgeführt: nach dreimaligem Durchgehen war die Brauereihefe vollkommen unterdrückt, auch die Gärerscheinungen der großen Maischen nahmen schnell wieder die der Rasse II zukommenden Eigentümlichkeiten an.

Wenn nun in der Tat die Verhältnisse so liegen, werden Sie erstaunt fragen: wozu denn überhaupt der Reinhefebezug, wenn die „natürliche Reinzucht" schon der besten Hefe zum Siege verhilft.

Die Frage zu beantworten, ist nicht leicht, weil keineswegs alle Faktoren bekannt sind.

Zunächst unsere Enquete über die in deutschen Brennereien gebrauchten Heferassen vom Jahre 1890. Sie ergab, daß tatsächlich in unsern Betriebshefen zahlreiche untüchtige Heferassen vorkommen. Daß sie nicht ausgeschieden werden, mag in folgendem erklärt werden:

Die Bezugsquellen für die Hefen waren die Preßhefefabriken, und diese hatten ein Zuchtsystem, welches eine genügende Wirkung nicht hervorbrachte; es ist nicht ausgeschlossen, daß der sehr hohe Säuregehalt, welcher in den Preßhefefabriken dem sauren Hefegut gegeben wird, kahmartigen Hefen in gewissem Grade den Vorzug gibt, während unsere besten Brennereihefen nur einen mittleren Säuregehalt ertragen; ferner findet die Fortpflanzung der Hefe in den Preßhefefabriken vielfach durch direkte Anstellung der großen Maischen mit der selbst gewonnenen Preßhefe statt: in diesem Fall kann die von solchen Anstalten bezogene Saathefe nicht gut sein; denn die Preßhefemaischen haben nur eine Konzentration von höchstens 14 pCt., unter dem neuen Gesetz gar nur von 10 pCt., von einer Unterdrückung untüchtiger Hefen kann also nicht die Rede sein. Die aus Lufthefefabriken stammende Preßhefe ist sogar notorisch stark besetzt mit Kahm.

Es kann vor dem Hefebezug aus Preßhefefabriken nur dringend gewarnt werden, sofern diese nicht durch ein rationelles Zuchtsystem eine gewisse Garantie bieten.

Endlich ist aber auch in den deutschen Kartoffelbrennereien keineswegs überall die Kunsthefebereitung rationellen Grundsätzen entsprechend: zahlreiche Brennereien führen ihre Hefen noch mit 18 pCt. am Saccharometer, oft sogar mit 15 pCt.; und wie lange ist es her, daß noch Grünmalzhefen mit 11 Saccharometeranzeige bereitet wurden?

Es kann aber auch noch tiefer liegende Ursachen geben: es ist nicht ausgeschlossen, daß es Heferassen gibt, welche Rasse II nicht an Gärkraft, aber an Sproßkraft überlegen sind und sie daher im Kampf ums Dasein schlagen.

Hierüber können erst weitergehende Forschungen Aufschluß geben.

Ich gehe zum zweiten Teil meines Vortrages über, zur:

Verwendung Dextrin vergärender Hefen.

Durch unsere Untersuchungen über die Heferassen Saaz und Frohberg ist festgestellt worden, daß die Maische außer der leicht vergärbaren Maltose und dem Dextrin einen schwer vergärbaren Zucker — nach anderen Forschern wahrscheinlich als Isomaltose zu bezeichnen — enthält:

Hefen vom Typus Saaz vergären nur die Maltose, Hefen vom Typus Frohberg vergären außerdem die Isomaltose und zwar, wie englische Forscher feststellten, dadurch, daß sie ein Enzym besitzen, welches imstande ist, ebenso wie die Diastase Isomaltose in Maltose überzuführen. Es gibt also Hefen, welche, wie das Malz, verzuckernde Eigenschaften besitzen: zu ihnen gehört auch die Rasse II, sie ist vom Typus Frohberg und vermag auch Isomaltose in Maltose umzuwandeln und zu vergären. Soweit waren wir bereits vor zwei Jahren, aber schon in meinem damaligen Vortrage kündigte ich an, daß es nunmehr unsere Aufgabe sei, Hefen zu suchen, welche nicht nur Isomaltose, sondern auch Dextrin zu vergären imstande seien, also gewissermaßen ohne Malz zu arbeiten vermöchten.

Diese Aufgabe zu lösen ist uns nunmehr gelungen. Unser Herr Dr. Rothenbach ist der Glückliche gewesen.

Die Bezugsquelle der Hefe verdient besonderes Interesse, sie ist eine Afrikanerin, aus unserer Kolonie Ostafrika haben wir sie durch Vermittelung des früheren Reichskommissars v. Wißmann importieren können. Aus dem Negerbier (aus Hirse hergestellt), welches uns zwecks Studien über die Konservierung mittels Salicylsäure übersandt war, hat unser Herr Dr. Lindner eine eigentümliche Hefeart isoliert, welche ein durchaus neues Genus darstellt und von ihm unter dem Namen Schizo-Saccharomyces Pombe beschrieben ist. Die Hefe, zu welcher der Physiologe Beijerinck der Delfter Preßhefefabrik alsbald eine Schwester, den Octosporus, gefunden hat, ist eine Spalthefe, d. h. sie vermehrt sich nicht durch Sprossung, wie

die echten Hefen, sondern wie die Spaltpilze dadurch, daß sie ihren Leib verlängert und dann, ein Querband bildend, sich in zwei Zellen spaltet.

Die Hefe wurde Herrn Dr. Rothenbach zu weiterem Studium übergeben; die Resultate sind folgende: Es wurde die Pombe verglichen mit der Rasse II.

In diastasefreien 14 prozentigen Malzwürzen gab Rasse II eine Endvergärung von 4 % am Saccharometer, Pombe ging bis auf 2 %. Da Rasse II sämtlichen Zucker vergärt, konnte die Weitergärung um 2 pCt. nur auf Vergärung von Dextrin zurückgeführt werden.

Eine diastasefreie konzentrierte Würze von 24 pCt. am Saccharometer wurde von Rasse II bis auf 3,5, von Pombe bis auf 2,2 vergoren.

Auch hochprozentige Maischen erlagen ihrer Wirkung, eine 28,6 prozentige diastasehaltige Maische wird bis auf 3,8 gebracht.

Man ging nun zu stärkster Dickmaischung über und versuchte eine 33,6 prozentige Maische zu verarbeiten.

Rasse II	ergab 12,2°	Saccharometer
Pombe	„ 10,7°	„
Eine Mischung beider . .	„ 7,3°	„

Mit der Mischung wurde gearbeitet, weil die Aussichten, mit Pombe etwas in der Praxis zu erzielen, gering waren, da diese Hefe eine wahrhaft negerhafte Trägheit besitzt. Sie bedarf zur schnelleren Wirkung sehr hoher Temperaturen; wird sie mit Rasse II gemischt zur Entwickelung gebracht, so wird sie von dieser vollständig überwuchert und bald unterdrückt. Will man daher beide Hefen zusammen arbeiten lassen, muß man sie getrennt züchten, und die Maischen, in denen beide für sich gewachsen sind, nach einer gewissen Zeit verschneiden. Eine solche Mischung wurde z. B. auch bei einer 27,7 prozentigen Maische bewirkt; Rasse II vergor diese auf 5,6 pCt., die nach 45 Stunden Gärzeit bewirkte Maischung gelangte auf eine Saccharometeranzeige von 1,4°, entsprechend einem Alkoholgehalt von 15,4 pCt.

Gegen Spaltpilz-Infektion erwies sich die Hefe außerordentlich standhaft; eine Maische, welche durch Säure erzeugende Spaltpilze infiziert war, zeigte nach der Vergärung:

mit Rasse Frohberg untergärig, einem Säuregehalt entsprechend . .	6,4° [1]
mit Rasse II	1,4°
mit Pombe	0,7°

Die Ursache dieser spaltpilzfeindlichen Tätigkeit war schnell gefunden; die Pombe erzeugt, entsprechend ihrer Spaltpilznatur, selbst nicht unbeträchtliche Mengen Säuren: in sterilen Würzen bildet z. B.:

Hefe Frohberg	0,25° Säure
Rasse II	0,45° „
Pombe	0,75° „

So scheint denn hier ein Gesetz gefunden, wonach Hefen um so spaltpilzwiderständiger sind, je mehr Säure sie selbst er-

1) 1° = 1 ccm Normalnatron auf 20 ccm Maische.

zeugen. Es weist das auf die praktische Erfahrung hin, daß eine gewisse Säurebildung bei sehr guten Vergärungen erwünscht ist, daß aber unter diesen Umständen nicht Spaltpilze, sondern die Hefen selbst die Ursachen der Säurebildung sind. Ein Versuch, ob die gebildete Säure der Tätigkeit der Pombe selbst schädlich sei, ergab, daß man durch Abstumpfung der Säure, durch Zusatz von kohlensaurem Kalk, wohl zu höheren Vergärungen kommen könne: es wurde unter diesen Umständen ein Alkoholgehalt von 16,9 Vol.-pCt. erzeugt.

Um die Empfindlichkeit gegen Säure weiter zu prüfen, wurde auch die Maische von vornherein mit verschiedenen Mengen Säure versetzt und nun mit den zu vergleichenden Hefen mit folgendem Resultat zur Gärung gestellt:

Maische diastasefrei. 29 pCt. am Saccharometer.

	Anfangs-Säuregehalt		
	0,7°	1,9°	3,1°
	Vergärung am Saccharometer		
	pCt.	pCt.	pCt.
mit Pombe . .	1,6	3,7	4,7
„ Frohberg .	12,7	18,2	—
„ Rasse II. .	13,6	—	17,5

Hier zeigt sich also die Pombe von einer kolossalen Überlegenheit, und bei einem Säuregehalt, welcher die Rasse II bei 17,5 pCt. am Saccharometer festhält, vermag die Pombe bis 4,7 zu arbeiten. Nunmehr schien der Moment gekommen, die Hefe der Praxis zuzuführen.

Herr Oberamtmann Säuberlich in Gröbzig stellte seine Brennerei zur Verfügung, nachdem wir an einer Ziege die Unschädlichkeit der Pombenschlempe nachgewiesen hatten.

Es gelang uns, von dem kostbaren Material 5 kg herzustellen. Herr Dr. Rothenbach und Herr Dr. Munsche gingen in Gröbzig mit den Versuchen vor. Und nun kommt der hinkende Bote nach. Ich hoffte, meinen Triumphgesang bis zu Ende führen zu können, denn in der Tat, eine Hefe, welche die Spaltpilze aus eigener Kraft bekämpft, welche das Dextrin, ohne Hilfe von Diastase zu vergären vermag, erschien in der Tat als das Ideal. Aber unsere Afrikanerin besitzt eine negerhafte Trägheit, obgleich man ihr das heimische Klima zur Verfügung stellte und die Maischen mit 20° R. anstellte, ging doch die Entwickelung nicht von der Stelle, bald stellte sich Infektion mit Rasse II ein, und diese überwucherte schnell unser Schmerzenskind. Diese Überwucherung vollzog sich so rapide, daß in der Tat Zweifel entstanden, ob nicht die Pombe etwa unter den Verhältnissen der Praxis ganz andere Formen annimmt, welche die Verwechselung mit Rasse II nach dem mikroskopischen Bilde möglich erscheinen läßt. Genug, es ist uns noch nicht gelungen, die erhofften Resultate in der Praxis zu erreichen, ob und wie wir besseres in der Zukunft zu melden haben werden wird die nächste Kampagne lehren müssen.

Die natürliche Reinzucht in der Praxis.

Vortrag von **M. Delbrück** auf der

Generalversammlung des Vereins Versuchs- und Lehranstalt für Brauerei in Berlin 1895.

(Wochenschrift für Brauerei, 1895.)

Meine Herren, das Jahr 1895 ist dasjenige der Jubiläen. Wenn wir 25 Jahre zurückrechnen, so kommen wir auf das Jahr 1870: das ist nicht bloß das Jahr der deutschen Einigung geworden, sondern von dieser Zeit an datieren auch gewisse gewerbliche Einrichtungen und Fortschritte, von der Zeit an datiert auch das gewaltige Anwachsen und die gewerbliche Entwickelung der Brauerei. Zu der Zeit wurde der deutsche Brauerbund geschaffen, zu der Zeit begann der alte — damals der junge, jetzt der alte — Lintner seine Arbeiten, bald darauf wurde die wissenschaftliche Station in München begründet.

Wenn man auf diese 25 Jahre Rückschau hält, so sind es zwei große Epochen, welche die wissenschaftliche Entwickelung der Brauerei bezeichnen, das sind die Arbeiten Pasteurs, welche nach 1870 ausgeführt wurden und im wesentlichen ausklingen in dem, was wir heute noch erstreben, nämlich in der Ersetzung des Kühlschiffes, d. h. in der Abhaltung jeglicher äußerer Infektion, und die Arbeiten Hansens. Aber die damaligen Bestrebungen Pasteurs konnten zu einem gedeihlichen Ende nicht führen, weil ein Punkt noch fehlte, den erst Hansens Schöpfung uns gegeben hat, nämlich die planmäßige Auswahl der reinen Hefe. Diese beiden Männer und ihre Schöpfungen, von denen ich gesprochen habe, haben das letzte Jahrzehnt hindurch uns bewegt und haben die Brauerei zu dem gebracht, was sie heute ist.

Da kann man nun fragen: was haben denn die deutschen Gelehrten gethan? auf welchem Gebiet liegt denn eigentlich deren Leistung? Wir haben nicht so glänzende Namen wie die eben genannten aufzuweisen, aber unsere deutsche Arbeitsrichtung ist doch eine eigentümliche und dadurch sehr

bedeutungsvolle. Die ganze Art und Weise, wie die deutschen Gelehrten gearbeitet haben, hat sich unmittelbar angeschlossen an die Arbeit der Praxis. Abgesehen von zahlreichen namhaften Gelehrten, darunter Nägeli in München, den ich zu den ersten auf diesem Gebiete rechne, hat diese Arbeit in besonderen Stationen stattgefunden, welche unmittelbar im Dienst der Praxis standen und somit die Aufgabe hatten, die wissenschaftlichen Gesetze zu finden, welche die Grundlage bilden für die bewährte Arbeit der Praxis.

Diese Art der Tätigkeit — soweit ich historische Studien gemacht habe und machen konnte — ist in den wissenschaftlichen Arbeiten des Auslandes weniger vertreten als bei uns, und als Grund hierfür nehme ich an, daß wir in Deutschland eine Ausbildung der Praxis haben — der deutsche Brauer ist ja in die ganze Welt hinausgezogen! — wie sie andere Länder nicht aufzuweisen hatten. Das bewährte Verfahren also, das als Grundlage der deutschen Arbeiten diente, das besaß in so feiner Ausbildung das Ausland nicht.

An dieser stillen, aber wichtigen Arbeit hat auch unsere Anstalt teilgenommen, indem sie von den Arbeiten des Hallensers Maercker ausgehend, die Berliner Schule begründete. Ich glaube nun, in einem Thema, welches ich während der letzten zwei Jahre bearbeitet, und welches ich „natürliche Hefereinzucht" genannt habe, dieser Art der deutschen Arbeit in gewissem Sinne einen Schlußstein gegeben zu haben, — nicht etwas Neues, sondern nur das Endglied in der wissenschaftlichen Begründung gefunden zu haben für die bewährte Arbeit in der Praxis, wie wir sie schon lange besaßen, die aber dadurch zu einem ganz anderen, nötigen Gliede in unserer Leistung im Brauereiwesen wird, weil sie nunmehr wissenschaftlich klargestellt und begründet ist.

Meine Publikation hierüber hat leider einen Herrn, den wir alle auf das höchste verehren, der auch auf meinen Antrag Ehrenmitglied unseres Vereins geworden ist, unseren verehrten Dr. Emil Christian Hansen in Kopenhagen, verletzt. Er hat sich wenigstens über diese Arbeit in solcher Weise geäußert, daß ich daraus schließen muß, daß er sich aufs tiefste verletzt gefühlt hat. Mir hat eine Absicht der Art selbstverständlich vollkommen ferngelegen; meine Äußerungen, die ich über das System der Hefereinzucht nach Hansen gemacht habe, haben mit der Person dieses von mir hochverehrten Herrn nichts zu tun. Aber ich will doch in gewissem Sinne die Äußerungen, die ich gemacht habe, rechtfertigen, schicke aber voraus, daß ich nichts zurückzunehmen habe.

Ich habe die epochemachende Arbeit von Hansen die „künstliche Hefereinzucht" genannt. Das hat auf ihn offenbar den Eindruck gemacht, als wollte ich damit sagen: „gekünstelte" oder „erkünstelte" oder „unnatürliche". Mein Sinn war aber der, daß es die höchste Kunst ist, die hier angewandt wird, die großartige Kunst des Operateurs, die diese Tat,

die einzelnen Zellen und ihre Nachkommenschaft in Zahl von Milliarden rein zu halten, vollbracht hat. Also das ist ja nur ein Ausdruck, den man so auslegen kann.

Dann hat Verstimmung erzeugt ein zweiter Ausdruck, den ich gebraucht habe. Ich habe gesagt: das System Hansen hat etwas Konservatives, den Fortschritt, wie ich mich drastisch ausdrückte — Ertötendes an sich. Wie kam ich zu dieser, wie es scheint, verletzenden Äußerung? Auf sehr einfache Weise, meine Herren! Die Tat Hansens — und das ist nicht bloß die wissenschaftliche Entdeckung, die er gemacht hat, sondern vor allen Dingen die Kraft, diese Entdeckung in die Praxis überzuführen; dies betrachte ich als ein noch größeres Verdienst als die Entdeckung selbst — ich sage, diese wissenschaftliche und praktische Tat Hansens stand so groß da, daß sie hypnotisierend wirkte. Man glaubte nun hierin das Zentrum gefunden zu haben, um das sich alles gruppieren müsse, und so sind dabei in der Tat, — deshalb sage ich: „es habe etwas Konservatives an sich" — naheliegende, wichtige Sachen übersehen worden. Zu diesen wichtigen Sachen rechne ich unter anderem die Gesetze der natürlichen Hefereinzucht, über die ich heute zu sprechen habe.

Herr Dr. Hansen hat uns früher öfter besucht. Er hat von dieser Publikation auch gesagt: er würde eine reinere Freude empfunden haben, wenn ich mich auf die Publikation der Arbeit des Herrn Dr. Munsche, welcher mich unterstützte, beschränkt hätte. Nun, ich lade Herrn Dr. Hansen ein, uns wieder zu besuchen. Er ist sicher, bei uns so freundlich aufgenommen zu werden, wie das immer geschehen ist, denn ich rechne ihn in der Tat zu den unsrigen. Wenn man Hansens Arbeiten verfolgt, wie sie über die Welt sich verbreitet haben, dann kann man auch feststellen, daß Deutschland gewissermaßen seine zweite Heimat geworden ist, die Heimat wo er wissenschaftlich am meisten anerkannt worden ist und sich äußert. Wie ich an die Publikation meiner Arbeit ging, habe ich mit meinen Kollegen eingehend Rücksprache genommen, besonders mit meinem Kollegen Dr. Paul Lindner, der gewissermaßen der Hüter an dem vestalischen Tempel der absoluten Reinzucht bei uns ist. Herr Lindner war nicht ohne Bedenken, er sagte: „Wenn nur nicht Unfug damit getrieben wird!" Wie meinte er das? Er meinte das in dem Sinne, daß die kostbare Erziehung, die nunmehr ein Jahrzehnt auf die deutschen Brauer angewandt worden ist, um sie an die Reinzucht zu gewöhnen, in ihrer Wirkung wieder beeinträchtigt werden könnte. Wir kamen aber beide zu dem Schluß, daß dies nicht zu besorgen sei. Nicht bloß unsere Anstalt in ihrer ganzen Forschungsrichtung, in ihrer ganzen Konstruktion des Unterrichtes, ist auf dem Hansenschen System aufgebaut, sondern die gesamten deutschen Schulen sind das ebenfalls, und Deutschlands Brauerei-Erziehung ist nach der Richtung hin, meiner Auffassung nach wenigstens, beendet. Allerdings wie die Sache in Frankreich und in einigen Ländern

wirken wird, wo die absolute Reinzucht nach Hansen noch nicht so in Fleisch und Blut der Brauereipraxis übergegangen ist, ja, das weiß ich nicht, das braucht aber auch unsere Sorge nicht zu sein, wenn es sich darum handelt, für uns Fortschritte zu machen, und so entschloß ich mich also zu der Publikation.

Nach dieser längeren Einleitung, welche ich aber für notwendig hielt, um unnötige Verstimmungen aus der Welt zu schaffen, gestatte ich mir nun, auf das eigentliche Thema einzugehen. Ich halte die Gesetze der natürlichen Reinzucht für so wichtig, daß ich selbst der Überzeugung bin, die deutschen Brauer haben, wenn auch unbewußt, immer diese Gesetze befolgt, da der Betrieb, wie sie ihn führen, denselben entspricht; es wäre auch die Einführung der Hansenschen absoluten Reinzucht sonst überhaupt nicht möglich gewesen. Das hoffe ich Ihnen im folgenden zu begründen:

Die Ableitung der Gesetze der natürlichen Reinzucht habe ich in der Weise vorgenommen, daß ich schrittweise die Arbeit in den verschiedenen Gärungsgewerben, sowohl der Brennerei wie der Brauerei, verfolgte, daß ich in jedem einzelnen Stadium untersuchte, wie die Hefe behandelt wird, und mich fragte: hat diese Behandlung etwa den Effekt, ein schädliches Individuum, einen schädlichen Organismus auszuschließen, und einen besseren Organismus zu erhalten und fortzupflanzen? — Da tat sich vor meinen Augen das auf, was schon immer vorhanden war, was aber noch nicht in dieser pointierten Weise erkannt war, daß in der Tat in beiden Gewerben bei der Hefezucht ein System der natürlichen Reinzucht befolgt wird. Ich fand eine Basis für diese meine Ansichten durch meine Reise nach den Vereinigten Staaten, wie ich das ja schon an anderer Stelle dargelegt habe, ich will heute darauf nicht wieder eingehen.

Ich ging dann frisch an die Arbeit, und Herr Dr. Munsche führte nach dem von mir entworfenen Arbeitsplan die Arbeit aus. Sie erstreckte sich nach zwei Richtungen, entsprechend den beiden von mir genannten Gewerben; ich will hier aber nur das behandeln, was die Brauerei angeht. Da schienen uns zwei Punkte vor allem wichtig zu sein. Die Brauereihefe wird dadurch gewonnen, daß der Bodensatz, welcher sich auf dem Gärbottich findet, wieder als Anstellhefe benutzt wird. Bei diesem Zubodensetzen werden von vornherein nicht alle Schichten des Satzes in der Praxis benutzt, sondern einzelne Schichten werden verworfen. Es fragte sich für mich also: Bedeutet diese Schichtung in der Tat nur, wie man gesagt hat, eine Sonderung von kleinen, degenerierten Hefezellen, oder liegt hier eine Sonderung der Rassen vor? — Um das zu entscheiden, ließ ich eine Mischung herstellen von wilder Hefe, welche Krankheitserscheinungen hervorbringt, und von normaler Brauereihefe, und nun zeigte sich bei einem Versuche im kleinen, daß die wilden Hefen lange schweben blieben, daß sich beim Setzen zwei Schichten bildeten, eine obere, vorzugsweise wilde Hefe, und eine untere, vorzugsweise normale Hefe enthaltende. Wenn rechtzeitig

ungepumpt wurde, solange die wilden Hefen schwebend waren und nur der Bodensatz zur Fortpflanzung benutzt wurde, so wurde allmählich der Bodensatz immer reiner und reiner, und endlich hatten wir es mit reiner Hefe zu tun, während wir ursprünglich mit einem Gemisch von zwei Rassen gearbeitet hatten.

Der zweite Punkt war folgender. Das Wesentliche bei der Hefezüchtung ist ein bestimmtes Klima, welches wir der Hefe geben. Mit dem Ausdruck „Klima" fasse ich hier verschiedene Dinge zusammen, vor allem aber ist darunter die Temperatur während der Gärung, während des Hefewachstums zu verstehen. Wie verhalten sich verschiedene Heferassen in Mischungen gegenüber der Temperatur? Die Zählungen, die wir bei verschiedenen Temperaturen machten, ergaben, daß bei niedrigeren Temperaturen die wilde Hefe, bei höheren Temperaturen die Kulturhefe die stärkere war.

Nun handelte es sich darum, hiermit in die Praxis zu gehen. In unserer nebenher laufenden Untersuchung für Brennerei ist uns im Großbetriebe der Praxis die Aufgabe, die für Brennereien untüchtige Bierhefe durch natürliche Reinzucht von der Brennereihefe zu trennen, glänzend gelungen. In der Brennereipraxis sind meine Gesetze der natürlichen Reinzucht ohne weiteres anerkannt. Hier war auch kein Risiko vorhanden, denn wenn wirklich die Trennung nicht so glatt von statten gegangen wäre, so wäre höchstens der Ertrag an Alkohol etwas geringer geworden, und das wäre kein großer Nachteil gewesen. Jetzt kam aber die Aufgabe, die Trennung der wilden Hefe von der Kulturhefe auch in der Brauerei zu prüfen, also ein Gemisch von beiden anzuwenden. Da wurde mir doch etwas sorgenvoll zu Mute. Es war die Aufgabe unserer Versuchsbrauerei, hier den ersten Versuch zu machen. Ich ging mit mir zu Rate, ob ich meinen gestrengen Herrn Braumeister fragen sollte: Wollen wir den Versuch riskieren? Da schrieb glücklicherweise — ich hatte inzwischen die Sache publiziert — einer unserer früheren Schüler, Herr Braumeister Pauzner, Meissen, an mich: „Ich bin fest überzeugt, daß das richtig ist, kommen Sie her und machen Sie bei mir die Versuche!"

Das geschah. Es wurde wilde Hefe gezüchtet, 1 kg wilde Hefe — wem geht da nicht ein leichtes Gruseln durch den Körper? — und es wurde in der betreffenden Brauerei eine Mischung gemacht, die zu 86 Teilen aus Kulturhefe, zu 14 Teilen aus wilden Hefen bestand. Die Infektion von 14 pCt. ist eine so enorme, wie sie in einem einigermaßen gut geleiteten Betriebe niemals vorkommen kann. Die Gärung wurde einmal durchgeführt, und was zeigte sich? Der Bodensatz aus dieser Gärung enthielt 96 pCt. Kulturhefe und nur 4 pCt. wilde Hefen! Durch eine Gärung war also die Verunreinigung von 14 pCt. auf 4 pCt. herabgesetzt. In dem Biere, welches von dieser ersten Gärung abgezogen wurde, schwebten Hefezellen, die zur Hälfte aus wilden Hefen, zur Hälfte aus Kulturhefen bestanden. Das erste Gesetz, daß die wilden Hefen schweben bleiben, auch

wenn sie in großer Menge vorhanden sind, war hiermit bestätigt. Nun wurde diese Hefe dem Schlämmprozeß unterworfen, und die 4 pCt. Verunreinigung wurden spielend auf 1 pCt. herabgesetzt. So hatten wir bereits nach einmal durchgegangener Gärung und fachmännischer Behandlung in der Hefe 99 pCt. Kulturhefe und nur noch 1 pCt. Verunreinigung. — Jetzt wurde die zweite Gärung angestellt. Die Hefe setzte sich gut ab und der Bodensatz war vollkommen frei von wilden Hefen! Nach zweimaligem Durchgehen war also die Hefe von der 14prozentigen Infektion vollkommen befreit; auf tausend Zellen, welche bei dieser Gelegenheit gezählt wurden, fand sich keine wilde Hefe.

Wie wurde dieses Kunststück vollbracht? Mit den einfachsten Mitteln, wie sie sich im Betriebe von selbst ergeben! Statt einer Temperaturführung von 4—7° R. wurde eine solche von 7—10° genommen, darauf erfolgte das Schlämmen; beim zweiten Male war die Temperatur $7^1/_2$—9° Meine Überzeugung ging dahin, daß die beliebte kalte Gärführung eine der Quellen der Infektion ist, da sie den wilden Hefen oder gewissen von ihnen den Vorrang gibt. Dann wurde aber als zweites Mittel angewandt rechtzeitiges Umpumpen und Grünschlauchen. Es wurde erstens umgepumpt nach 42 Stunden, kurz bevor die Gärung zu höheren Kräusen übergehen wollte. Der Bodensatz, der sich dann am Boden befand — dies ist eines der interessantesten Resultate dieser Versuche — bestand zu 2 pCt. aus lebenden wilden Hefen. Also eine gewisse Zahl wilder Hefen setzte sich in erster Gärung zu Boden, zusammen mit Kulturhefen, toten und lebendigen. Was sind das für Zellen? Das sind träge Zellen, die nicht tot sind, die sich aber nicht zur Gärarbeit entschließen und keine Kohlensäure entwickeln, welche sie hebt und bewegt; infolgedessen bleiben diese wilden Hefen ruhen, um aber später bei Wiederverwendung des Satzes ihre Tätigkeit wieder aufzunehmen. Das alte Umpumpen, 24 Stunden nach dem Aufstellen, oder wie wir es gemacht haben, 42 Stunden nach demselben, ist nicht nur ein Mittel, um trubfreie, weiße Hefe zu erhalten, sondern ist auch ein Kunstgriff der natürlichen Reinzucht.

Um weiter zu beobachten, wie die verschiedenen Schichten sich beim Absetzen der Hefe verhalten, wurden Glasschalen in den Gärbottich gesenkt und zu bestimmten Zeiten herausgenommen, um zu sehen, wieviel sich gesetzt hatte. Da fand sich, daß eine ganze Reihe von Schichten übereinander lagerte; die unterste Schicht enthielt 2 pCt. wilde Hefen — und diese wäre Unterschicht geblieben, wenn wir nicht umgepumpt hätten, dann folgte eine Schicht mit $^1/_2$ pCt. wilden Hefen, dann eine solche mit $1^1/_2$ pCt., dann die oberste mit $5^1/_2$ pCt. und dann das Bier mit 50 pCt. wilden Hefen. Die Schichten nahmen also — von dem ersten Bodensatz abgesehen — nach oben hin ganz regelmäßig an wilden Hefen zu.

Die Versuche mußten nun noch an einer anderen Stelle wiederholt und bestätigt werden, und da entschlossen wir uns kurz, in unserer Versuchs-

brauerei damit vorzugehen. Herr Braumeister Ahrens und Herr Dr. Munsche haben zusammen diese Versuche ausgeführt. Wir wollten hier der wilden Hefe noch einen kleinen Vorsprung geben. Wir ließen die Würze in einen Gärbottich und gaben zunächst eine in Kräusen stehende Gärung von reinen wilden Hefen zu, so daß die wilde Hefe zuerst das Terrain beherrschte. Dann wurde Kulturhefe hinzugefügt, und zwar in solcher Mischung, daß nachher sich das Verhältnis von ungefähr 75 pCt. Kulturhefe und 25 pCt. wilder Hefe ergab. Wenn Sie 8 Liter Hefe auf einen Bottich zum Anstellen verwenden, so würden also in diesen 8 Litern 2 volle Liter wilder Hefe vorhanden sein!! Wir führten die Gärung jetzt noch etwas wärmer, die Temperatur stieg in diesem Falle bis auf 12° R. Der Erfolg war, daß der Bodensatz der ersten Gärung 97 pCt. Kulturhefe, 3 pCt. wilde Hefe, nach dem Schlämmen 99 pCt. Kulturhefe und 1 pCt. wilde Hefe enthielt, in der darauf folgenden Gärung war der Bodensatz rein. Das war eine unmittelbare Bestätigung des in der anderen Brauerei erzielten Resultates.

Hiermit war festgestellt, daß es möglich ist, in der Praxis einfach durch sorgfältige Führung der Gärung, durch sorgfältige Beobachtung der Schichtenbildung die Hefe zu reinigen. Die richtige Schichtenbildung kann man dadurch erzielen, daß man rechtzeitig umpumpt. In dieser Beziehung sind die Einrichtungen des amerikanischen Gärsystems großartig; in mehreren übereinander gebauten Etagen befinden sich: der Anstellbottich, der Gär-, der Ruhbottich und endlich das Lagerfaß; das Bier macht so vier Stationen durch, auf jeder Station findet ein Absetzen statt, und dadurch wird die Reinigung bewirkt. Bei uns vollzieht sich das alles in demselben Gärbottich; das können wir, weil bei uns in der Praxis von so großen Verunreinigungen gar nicht die Rede ist, sondern immer nur kleine Beimischungen in Frage kommen. Zu deren Beseitigung genügt es, daß man den in der Mitte der Schichten liegenden Bodensatz, die Kernhefe, greift und vor allen Dingen grün schlaucht, das heißt nicht so lange wartet, bis die Infektionshefe sich gesetzt hat.

Aber die geordnete Schichtenbildung kann noch auf andere Weise befördert werden. Eine besonders wertvolle Unterstützung ist mir geworden durch eine Ausführung des Herrn Braumeisters Leykum in Bonn. Die letzte Nummer der Wochenschrift war reichlich mit natürlicher Reinzucht besetzt; ich hoffe, Sie haben sie alle fleißig gelesen oder werden sie später noch lesen. Ich mache Sie besonders aufmerksam auf die Ausführung des Herrn Baumeisters Leykum. Was er sagt, stimmt überein mit den Untersuchungen, die Herr Holderer, früher Braumeister in Magdeburg, schon vor längerer Zeit ausgeführt und mir jetzt in einem Brief wiederholt hat. Holderer sagt: Die Sache hat ihren Haken, die Schichtenbildung wird sich nicht so regelmäßig vollziehen, die Hefe geht mal zu Boden, geht wieder hoch, ballt sich auch in Klumpen zusammen, und so werden wir eine

Vermischung der Schichten haben. Das hat sich bei uns auch gewissermaßen bestätigt; denn bei dem Infektionsgrade der unteren Schichten von 0,5 und 1,5 pCt. hätte man eigentlich in der schließlich gewonnenen Hefe eine sehr niedrige Infektion erwarten müssen, während sie doch noch mit 4 pCt. infiziert war; das weist darauf hin, daß in der Tat solche Vermischungen der Schichten durch wiederholtes Aufsteigen der Hefe stattfinden.

In Bezug hierauf hat nun Leykum folgendes ausgeführt: Seine praktische Erfahrung weise ihn darauf hin, daß das alte Verlangen der Brauer nach einem schönen Bruch ein überwundener Standpunkt, eine falsche Forderung sei. Er nimmt an, daß eine Hefe, die einen guten Bruch gibt, dadurch, daß sie sich klumpt, sehr leicht Organismen anderer Natur, wilde Hefen, einschließen kann. Ich erinnere an den berühmten Ausspruch, den Dr. Schultze, früher in Wien, gelegentlich unserer Trinkgefäßprobe getan hat: „Wenn ich Bruch in meiner Gärung sehe, dann bin ich fertig, dann muß die Hefe weg."

Nun führt Leykum weiter aus: In der Tat könne die Schichtenbildung nicht geordnet vor sich gehen, wenn wir einen guten Bruch haben. Weshalb haben denn die Brauer auf den guten Bruch so viel Wert gelegt? Es gibt für schlechten Bruch zwei Ursachen. Einmal tritt schlechter Bruch ein, wenn Infektion mit wilden Hefen, mit staubigen Hefen vorhanden ist. Ist das die Ursache, dann allerdings heraus mit der Hefe! Dann muß man für Bruchhefe sorgen. Aber umgekehrt, wenn ich reine Hefe nach Hansen führe und wilde Hefen nicht vorhanden sind, dann brauche ich auf Bruch, wie ja auch allgemein anerkannt ist, gar nicht zu sehen. Wir haben in diesem Jahre in der Versuchsbrauerei sehr viel über mangelhaften Bruch zu klagen, haben aber wunderschöne, haltbare Biere.

Die Beurteilung der Gärung nach dem Bruch muß also entschieden reformiert werden. Ich glaube, daß die Ausführungen des Herrn Leykum sehr wichtig sind. Er sagt: Die Hefen, die staubiger Natur sind, die sich nicht klumpen, werden sich geordnet setzen, indem nicht eine Hefe die andere stört oder mitnimmt. Nach diesem Grundsatz hat er seine Gärungsführung eingerichtet. Herr Dr. Schönfeld ist mit Erlaubnis des Herrn Braumeisters Leykum in Bonn gewesen und hat das Verfahren wissenschaftlich durchgesehen; es hat ihm ausgezeichnet gefallen; ich komme darauf noch zurück. Neben dem geordneten Absetzen ist die Absicht Leykums auch die, dafür zu sorgen, daß möglichst viel Hefen schwebend bleiben, damit man auf alle Fälle ein Grünfassen erreichen kann.

Jedoch! Eine Varietät wilder Hefe haben wir untersucht! Was will das sagen bei den zahllosen, die es gibt? Bei der einen Hefe trifft das zu, bei einer zweiten, die in einer anderen Brauerei den Schaden verursacht, trifft es nicht zu. Wie steht es ferner mit den Kahmhefen, die doch eine recht schlimme Infektion mit sich bringen? Mit Untersuchungen darüber sind wir beschäftigt. Herr Auerbach, ein früherer Schüler von uns, der sich jetzt

wissenschaftlich weiter ausbildet, hat unter Leitung des Herrn Dr. Schönfeld Versuche darüber angestellt, und die ergeben merkwürdigerweise, daß eine zum Versuch benutzte Kahmhefe sich genau so verhält wie die wilde Hefe, so daß ich zu dem Ausspruch komme: Man muß die Hefen systematisch teilen in Kalthefen — das sind gewöhnlich die wilden und Infektionshefen —, die bei niedriger Temperatur, und in Kulturhefen (Warmhefen), die bei höherer Temperatur die stärkeren sind. In der Tat zeigte sich z. B., daß eine Infektion mit Kahm, welche 75 pCt. Kahm enthielt, bei 10° R. in Konkurrenz gesetzt mit Kulturhefe, alsbald auf 38 pCt. zurückging, während bei 2° R. der Kahm bis auf 99 pCt. wuchs. Die Sonderung durch Schichtenbildung vollzieht sich ebenfalls. Bei einer Infektion mit 71 pCt. Kahm bekommt man im Laboratorium nach siebenmaligem Umgießen die Kulturhefe frei von Kahm; es waren also dieselben Gesetze für die in Untersuchung genommene Kahmart auch maßgebend.

Nun entwickelt sich der Gedanke: Wenn zwei so verschiedene Hefen, eine wilde Hefe und eine Kahmhefe, beide dieselben Eigenschaften zeigen, handelt es sich vielleicht hier um ein allgemeines Gesetz? Sind nicht vielleicht überhaupt die Kalthefen die eigentlich schädlichen? Das erscheint mir nicht mehr zweifelhaft. Wir treffen die Infektion auch bei sorgfältig geleiteten Betrieben, es müßte doch wunderbar zugehen, daß wir die Hefe nicht sollten rein halten können, wenn nicht etwas eintritt, was ich als den „toten Punkt" in der Gärung bezeichne. Der Moment, wo sich die Kulturhefe zu Boden setzt und die Gärung schon stark durchfällt, wo das Bier anfängt, klar und lauter dazustehen, ist zugleich der Moment, wo diese Infektionshefen einsetzen und trotz der jetzt eintretenden Abkühlung zur Entwickelung kommen. Diese Entwickelung setzt sich auf dem Lagerfaß fort, wo die Kulturhefe gar nicht mehr wächst. Der Gedanke, der immer noch hie und da hängen geblieben ist, als ob die Kulturhefe auf dem Lagerfaß noch wachse, muß ganz ausgerottet werden. Das Wachstum der Kulturhefe geschieht nur in der ersten Zeit bis zu den hohen Kränsen, dann ist es beendet, dann findet nur noch ein Ausreifen statt. Aber wenn es beendet ist, dann folgt die kühle Temperetur, und dann entwickeln sich die wilden Kalthefen. Die Warmhefen — und zu denen rechne ich die Kulturhefe — entwickeln sich nur bei wärmeren Temperaturen und hören damit auf, sobald sie in die kälteren Temperaturen kommen. Aber eine starke Entwickelung der Infektion kann nur stattfinden, nachdem die Überführung in das Lagerfaß sich vollzogen hat, nachdem die Haupthefe sich gesetzt hat. So lange die Haupthefe noch da ist, verteidigt sie sich selbst.

Deshalb komme ich zu der allgemeinen Anschauung, daß die Kalthefen die Infektionshefen sind, daß sie ganz allgemein durch wärmere Gärführung bekämpft werden können, und daß der großartige Fortschritt, welchen uns die Eismaschinen gebracht haben, in Bezug auf die Reinhaltung der Gärung kein Fortschritt gewesen ist, daß wir in der Gärungstemperatur

unzweifelhaft zu tief gegangen ſind. Ich glaube mich nicht zu irren, wenn ich annehme, daß im Anfange, als die Eismaſchinen aufkamen, man allmählich mit der Temperatur immer tiefer herunterging: erſt 5—8°, dann 4—7½°, 4—7°, endlich 3½—6°: das war ein Fehler; die Ausführungen, welche verſchiedene Praktiker über dieſen Punkt in der Wochenſchrift gebracht haben, beweiſen es; die zu kalten Gärungen müſſen meines Erachtens vermieden werden. Nach meiner Überzeugung kann man im Durchſchnitt mit der Temperatur heraufgehen, ohne irgend wie den Geſchmack zu ſchädigen — indeſſen das ſtelle ich gern der Debatte anheim; es kann ſein, daß da gewiſſe Grenzen einzuhalten ſind, das allerhöchſte wäre vielleicht 8° — ich glaube, daß man dadurch eine reinere Gärung erzielen wird. Die Geſetze bezüglich der Spaltpilze, deren Entwickelung bei höheren Temperaturen in Frage kommen würde — deren Klima liegt höher —, müſſen etwas näher erforſcht werden; wie dieſe ſich bei den mittleren Temperaturen, 10—8°, verhalten, wiſſen wir noch nicht.

So möchte ich meine Betrachtungen zu einem Schlußwort zuſammenfaſſen. Der Ausgang bei der Gärungsführung iſt abſolute Reinheſe nach Hanſen. Daß eine ſolche Reinheſe im Betriebe nicht rein bleibt, wiſſen wir alle; die Infektion iſt nicht zu verhindern. Die Aufgabe iſt: die Infektion auf das möglichſte Maß einzuſchränken — wir nennen das Aſepſis, das heißt: Abſchaffung des Kühlſchiffes, abſolute Reinhaltung der Gärbottiche und Leitungen. Dann aber kommt es darauf an, die Infektion nicht zur Entwickelung kommen zu laſſen; das iſt Aufgabe der natürlichen Reinzucht. Und welches ſind die Kunſtgriffe der letzteren, wenn ich ſie nochmals durchgehe? Das erſte iſt ſchnelles Kühlen, auch dann, wenn man noch das Kühlſchiff hat, raſch über das Kühlſchiff laufen laſſen, um die Temperatur herabzuſetzen. Ferner: ehe die Würze in den Gärbottich kommt, die Heſe zugeben. Das braucht nicht wörtlich genommen zu werden; aber mein Grundſatz iſt: „Erſt Heſe, dann Würze.“ Ich habe ſchon vor einigen Jahren auf dem Brauertage in Hamburg auseinandergeſetzt, daß, wenn man nach dieſem Grundſatz verfährt, wenn alſo die Heſe von vornherein da iſt und das Terrain beſetzt, man ſelbſt bei Temperaturen von 24° eine vollſtändig ſpaltpilzfreie Gärung führen kann; ich erinnere da an die ſchönen einſchlagenden Unterſuchungen Nägelis, welche ſchon anfangs der ſiebziger Jahre ausgeführt ſind. Alſo Heſe und dann Würze, damit die Heſe das Terrain beſetzt; nicht zu kalt angeſtellt, die Gärung flott ſich entwickeln laſſen, womöglich herführen; denn das Herführen bringt von vornherein Bewegung in die Maſſen, und dieſe ſchützt vor Entwickelung der Infektion; denn die ſich ſelbſt verteidigende Heſe iſt bald hier, bald da und läßt die wilde Heſe nicht aufkommen. Dann Reinigung durch Beachtung der Schichtenbildung und, ſoweit nötig, nach 24 bis 12 Stunden umpumpen — man braucht ſich nicht zu genieren, das auch in hohen Kräuſen vorzunehmen — natürlich nur dann, wenn

man Infektion beobachtet und diese wieder zurückdrücken will. Endlich grün fassen, nicht lauter schlauchen. Nicht auf Bruch arbeiten; denn die Bruchhefe wird im großen Ganzen nicht so geeignet sein, das regelmäßige Absetzen zu ermöglichen.

Vor allen Dingen aber schnell arbeiten: „Schnellgärung"! Auch damals in Hamburg habe ich hierauf hingewiesen, und von verschiedenen Seiten wurde mitgeteilt, daß man einen ausgezeichneten Erfolg dadurch erzielt habe, daß man die Gärzeit im Gärbottich fortgesetzt abkürzte. Wo steckt die Hauptinfektion, wenn die Leitungen rein sind? Immer im Gärbottich! Dort steht die Würze 8 bis 16 Tage offen, und in diesen 16 Tagen wird nur das bißchen Arbeit der Vergärung von 14 pCt. auf 5 pCt. geleistet. Wenn man die Leistungsfähigkeit der Hefe kennt, so ist es doch ein Kleines, die Gärdauer auf 8 Tage oder auf 6 Tage zu reduziren. Beispiele dafür liegen schon vor. Wir brauchen mit der Temperatur gar nicht so hoch zu gehen; wenn wir reichlich Hefe geben, und nicht bloß einmal, sondern zweimal, dreimal, event. in der Nacht, aufziehen, dann können wir die Gärung sehr gut in 6 bis 7 Tagen fertig bringen, und mit jedem Tag, den man spart, erreicht man eine größere Sicherung der Reinheit. Diese ganz kurze Gärzeit für untergärige Biere ist an zwei Stellen in der Praxis bereits erprobt, einmal in der Brauerei, wo wir, wie ich vorhin erwähnte, den ersten Versuch machten, und dann in der Bonner Aktien-Brauerei, wo der Braumeister Leykum ganz ebenso verfährt. Er stellt warm an, gibt reichlich Hefe, zieht ein paarmal auch noch am zweiten Tage auf, läßt die Temperatur nur bis 7° steigen und kühlt sofort herunter. Herr Dr. Schönfeld hat das Absetzen der Hefe durch Zählen verfolgt und sagt: es ist ganz erstaunlich, wie völlig entwickelte Hefe nach ein paar Tagen bei dem starken Kühlen förmlich zu Boden gerissen wird, so daß schleunigst geschlaucht werden mußte, um das Bier nicht zu lauter auf das Faß zu bringen. Wenn man diesen Grundsatz, daß man die Gärung abkürzt, auch noch hinzunimmt, dann muß ein vorzüglich gutes Resultat erreicht werden.

Als ein wesentliches Moment ist hier noch festzuhalten, daß die Infektion zuweilen im Betriebe gesucht wird, wo sie gar nicht steckt. Die Rundreisen, welche die Herren Dr. Lindner und Dr. Schönfeld unternommen haben, zeigen, daß in unseren deutschen Brauereibetrieben, obergärigen wie untergärigen, eine außerordentliche Reinheit und Reinlichkeit herrscht. Infektionen sind ja da, aber sie sind in den Hefen und Gärungen verhältnismäßig gering. Allein wo treten sie auf? Immer in den Leitungen nach den Versandgefäßen und in Versandgefäßen selbst. Man müßte ein Preisausschreiben machen für eine vernünftige und sichere Reinigung der Versand-Fastagen. Wenn dort für Reinlichkeit gesorgt wird und man arbeitet mit einem kleinen Überdruck von Kohlensäure, dann muß das Bier haltbar sein. Ich glaubte, das anführen zu sollen, weil dadurch der Wert dieser Betrachtungen sehr wesentlich erhöht wird.

Es wird zuweilen gesagt, die Fortschritte im Gewerbe, besonders die durch wissenschaftliche Arbeiten hervorgebrachten, kämen nur dem Großbetriebe zu gute. Nun, meine Herren, hier ist ein Gebiet, wo die mittleren Brauereien mit dem Großbetriebe reichlich konkurrieren können, ja, wo ein sorgsamer Braumeister im mittleren Betriebe besseres leisten kann, als im Großbetriebe.

Damit will ich meine Betrachtungen schließen. Ich glaube, daß die Frage der natürlichen Reinzucht nicht mehr verschwinden kann. Sie ist nichts anderes wie unsere vollkommene Praxis, sie ist das, was unsere Praxis immer schon besessen hat. Ich habe früher einmal einen Vortrag damit geschlossen, daß ich gesagt habe: „Mit dem Schwerte der Wissenschaft, mit dem Panzer der Praxis, so wird das deutsche Bier die Welt erringen." Ich möchte heute diesem Panzer noch eine kleine Wehr hinzufügen. Der Panzer ist zu grob, man kann sich darin nicht genügend bewegen dem Feinde gegenüber; — nehmen wir den Schild noch hinzu, den man dem Feinde entgegenhält! Das ist die mit der Wissenschaft verquickte Praxis, das ist die natürliche Reinzucht!

Neues über natürliche Hefezucht.

Vortrag von **M. Delbrück** auf dem 8. deutschen Brauertag in Nürnberg Juni 1896.

(Wochenschrift für Brauerei, 1896.)

Meine Herren, gestatten Sie, daß ich zunächst meiner Freude darüber Ausdruck gebe, in diesem herrlichen Saale sprechen zu dürfen; denn das Thema, über welches ich zu Ihnen zu reden gedenke, ist nichts anderes als die in Gesetze umgestaltete Praxis, und hier in diesem Saale ist gewiß schon mancher vortreffliche Trunk bayerischen Bieres getrunken worden, und zwar von denen bereitet, die wir als unsere Lehrmeister ansehen, den alten praktischen Brannmeistern; deren Erfahrungen, nach wissenschaftlicher Erkenntnis in Regeln gefaßt, will ich Ihnen jetzt darlegen. Ich nenne das Kapitel das der natürlichen Hefereinzucht und möchte meinen Vortrag nach drei Richtungen gruppieren.

Zunächst möchte ich in Erwägung ziehen einige vorbereitende Maßregeln. Es ist selbstverständlich, daß, wenn wir eine reine Gärung haben wollen — das ist ja lange Zeit der Gegenstand der Erörterungen gewesen —, wir die Abhaltung der Infektion ins Auge zu fassen haben: reine Gefäße, reine Luft und dann ein neues Gebiet, nämlich eine gewisse Schnelligkeit der Gärung. Wir wissen, daß wir überall aus der Luft eine Infektion zu erwarten haben, und daß sie namentlich dort eintritt, wo Würze an der Luft offen da liegt, daß dies auch der Fall ist im Gärbottich und daß wir also mit jedem Tage mehr, welchen wir die Gärung der Luft aussetzen, die Möglichkeit der Infektionsgefahr steigern. Wenn also nicht andere Gesichtspunkte, der Geschmack des Bieres u. s. w., den Brauer verhindern, muß man sagen, daß jeder Tag der Abkürzung der Gärung eine Verringerung der Gefahr der Infektion ist. Man kann von demselben Gedankengange ausgehend die Behauptung aufstellen, daß eine kürzere Lagerzeit, sofern sie den Geschmack des Bieres nicht beeinträchtigt, für die Reinheit der Gärung eine gewisse Sicherheit gewährt.

Dann kommt als zweites vorbereitendes Mittel in Betracht die Verwendung absolut reiner Aussaat, die Verwendung reiner Hefe nach Hansenscher Methode als Grundbedingung aller Gärungsführung. Aber gleichzeitig muß die Forderung gestellt werden, daß diese Hefe rein gehalten werde und daß, sofern eine Infektion eingetreten ist, diese durch Befolgung der Regeln der natürlichen Reinzucht wiederum beseitigt wird. Damit treten wir ein in das engere Gebiet der natürlichen Reinzucht.

Da haben wir zwei Mittel, welche es ermöglichen, eine verunreinigte Hefe wieder rein zu machen. Da ist erstens, alles so einrichten, daß die Kulturhefe, deren alleinige Vermehrung und Wirkung wir wollen, bevorzugt werde in der Entwickelung, daß sie sich schneller entwickelt als die etwaige Konkurrentin. Wir haben dazu besondere Mittel, zunächst das Mittel der reichlichen Aussaat. Man wird darauf hinarbeiten müssen, soweit es der Geschmack gestattet, an Aussaathefe mehr als $^1/_2$ Liter pro Hektoliter Würze zu geben; die Steigerung bis zu einem Liter kann ins Auge gefaßt werden. Auf demselben Gebiete liegen die Maßregeln des Herführens und Drauflassens der Würze. Normales Malz, gesund zusammengesetzte Würze ist ebenso notwendig wie selbstverständlich. Wir verdanken es dem verehrten Herrn Vorredner (Aubry), daß er nachgewiesen hat, daß gewisse Spaltpilze sich mit Vorliebe entwickeln, wenn etwa Stärke in der Würze enthalten ist, die später zu Kleistertrübung Veranlassung gibt.

Endlich kommt die Frage der rechtzeitigen Lüftung. Wir können nur dann auf Reinhaltung in der Entwickelung der Hefe rechnen, wenn wir zur rechten Zeit lüften, die Lüftung kann daher nur am Anfang der Gärung liegen und namentlich nur dann, wenn die Hefe bereits zugesetzt ist, damit die Luft die Hefe trifft, welche wir entwickeln wollen. Geben wir z. B. auf dem Kühlschiff lange Zeit Lüftung, so werden zufällig hineingefallene Hefen sich entwickeln zu einer Zeit, wo wir es nicht wollen. Ebenso müssen wir, nachdem die Hefenentwickelung beendet ist, das Lüften durchaus abschneiden. Deshalb bin ich so sehr für die Abkürzung der Gärzeit, weil dann noch später aus der Luft eintretender Sauerstoff den wilden Hefen zur Verfügung gestellt wird, welche sich dann entwickeln. Wenn man den Gärbottich so ruhig dastehen sieht, kann man sich gar nicht vorstellen, mit welcher Gewalt der Sauerstoff aus der Luft in die Würze fällt, in die Tiefe dringt und seine Wirkung ausübt. Man kann diese Wirkung keineswegs als gering veranschlagen: bei der Nachgärung ganz besonders, wo reichliche Menge Kohlensäure, welche sich in der Hauptgärung entwickelt, das Eindringen des Sauerstoffes nicht mehr hindert; in der Nachgärung wird von Tag zu Tag das Eindringen und die Wirkung des Sauerstoffs lebhafter.

Endlich komme ich auf den Kardinalpunkt der Temperaturführung. Unsere Untersuchungen haben gelehrt, daß die besonderen Schädlinge in den Brauereien, die wilde Hefe und die Kahmhefe, eine gemeinsame Eigenschaft

besitzen gegenüber der Kulturhefe, daß man sie nämlich bezeichnen darf als Kalthefen, daß sie sich spezifisch in der Kälte entwickeln, während die normale Kulturhefe sich bei höheren Temperaturen viel leichter entwickelt. Es wird Ihnen bekannt sein, daß wir in der Praxis, von diesem Gesetz Gebrauch machend, es durch passende Temperaturführung erreicht haben, aus einer Saathefe, welche 20 pCt. wilde Hefe enthielt, diese nach einigen Führungen herauszuwerfen nur dadurch, daß höhere Anstellungstemperaturen, höhere Gärführungstemperaturen gewählt wurden. Also durchschnittlich eine höhere Gärtemperatur mit Weisheit angewendet, meine Herren, soweit es der Geschmack und sonstige Bedingungen zulassen!

Eine ganz besonders interessante Entwickelung hat aber die Frage der Temperaturführung dadurch gewonnen, daß man, abgehend von dem bisherigen Verfahren, nach dem man zunächst kalt anstellt, dann die Wärme steigert und dann wieder die Temperatur abnehmen läßt, direkt eine fallende Skala in Gebrauch nimmt, daß man also mit 7° anstellt, die Temperatur auf dieser Höhe durch Schwimmer festhält und nun wie üblich bis zum Schlauchen die Temperatur herabdrückt. Lüftung, Temperaturführung, das sind die Mittel, um die Kulturhefe zur Entwickelung, und zwar zu einer schnellen Entwickelung zu bringen. Ich will nicht unterlassen darauf hinzuweisen, daß die Pilsener Brauereien aus dem Grunde, weil sie diese Regeln nicht ganz genau befolgen, besonders was die Schnelligkeit der Gärung betrifft, nicht so haltbare Biere herstellen, wie wir es in Deutschland zu tun in der Lage sind. Eine spezielle Untersuchung, welche ich auf diesem Gebiete habe ausführen lassen, hat unzweifelhaft ergeben, daß die deutschen Biere nach Pilsener Art den echten Bieren, was die Haltbarkeit und Reinheit des Bieres angeht, bei weitem überlegen sind.

Jetzt kommt das zweite Gesetz der natürlichen Reinzucht: Es ist die Reinigung der Hefe durch das Satzverfahren, auch eine uralte Gepflogenheit. Die Grundlage dieses Gesetzes ist die, daß die Hefe, welche sich nach der Gärung am Boden des Gärbottichs befindet, aus mehreren Schichten besteht. Was ist nun das Neue dabei? Das Neue, das die Untersuchung ergab, war, daß die unterste Schicht nicht nur tote Teile, nicht nur mechanische Verunreinigungen enthielt, sondern daß gewisse momentan sich zwar nicht entwickelnde, aber der späteren Entwickelung sehr wohl fähige wilde Hefen sich am Boden befinden. Die alte Praxis, nur die Kernhefe zu verwenden, war also nicht nur daraus hervorgegangen, unbewußt natürlich, daß man reine Hefe im Sinne der mechanischen Reinheit haben wollte, sondern man übte ein Gesetz der Reinzucht aus, da sich über der Schicht der Kernhefe eine zweite Lagerung von wilder Hefe bildet, welche, später zur Entwickelung gekommen, sich später setzt, auch weil sie leichter ist. Diese Schichtung kann man aber auch systematisch und sicherer hervorbringen, indem man umpumpt, und diese alte Methode, daß man nach 24 oder 48 Stunden umpumpt und den Bodensatz zurückläßt, oder, wie es noch heute

in großen Wiener Brauereien geschieht, daß man den oberen Teil des Bottichinhaltes auf einen zweiten Gärbottich überfüllt und dort drauflläßt — das ist die neue Methode der natürlichen Reinzucht. Denn das wiederholte Umpumpen, auch das Umpumpen kurz vor dem Schlauchen, hat den Sinn, daß die Kulturhefe frei bleiben soll von den sich dann noch setzenden weniger tüchtigen Heferassen. Wenn ich noch daran erinnere, daß wir das Schlämmen des Satzes ausführen können, womit auch eine Reinigung von Spaltpilzen herbeigeführt wird, so liegt in dem Setzverfahren ein großes Mittel zur Reinhaltung der Hefe. Nur ein Punkt ist dabei zu bedenken, nämlich, daß die Brauer, wenigstens die Mehrzahl derselben, großen Wert darauf legen und ihr ganzes Bestreben darauf richten, Hefe zu erzielen mit vortrefflichem Bruch. Allerdings ist die Vertrauensseligkeit, daß die Bruchhefe oder Klumphefe, wie ich sie bezeichnen möchte, die beste sei, durch die Einführung der Reinzucht etwas eingeschränkt worden. Denn man hat nachgewiesen, daß auch da, wo kein Bruch bemerkbar war, vortreffliche Resultate erzielt wurden. Heute kommt man allmählich zu dem Standpunkt, daß man Bruchhefe ganz verwerfen sollte; denn indem die Hefe Klumpen bildet, schließt sie alle möglichen Spaltpilze und sonstigen Verunreinigungen in sich ein, die mit zu Boden gerissen werden, die sonst, wenn Sie eine Staubhefe haben, also eine solche Hefe, bei welcher die einzelnen Hefeteilchen und auch die Verunreinigungen sich ordnungsmäßig nach dem spezifischen Gewicht lagern, absetzen und schichten können, ausgeschieden werden. Wiederholt ist mir von Praktikern bestätigt worden, daß sie in der Tat glauben, besonders bei Erzeugung ganz außerordentlich haltbarer Biere, den Staubhefen unter allen Umständen den Vorzug geben zu müssen.

Dies, meine Herren, sind die beiden Hauptgesetze der natürlichen Reinzucht: die Bevorzugung der Kulturhefe durch schnellere Entwickelung und das Scheiden nach dem Satzverfahren.

Nun kommen noch einige ergänzende Mittel zur Verwendung, zunächst das Gesetz der Vermeidung der toten Punkte, wie ich es nennen möchte. Überall, wo Nahrungsmittel vorhanden sind, und wo die Kulturhefe sich dieser Nahrungsmittel nicht mehr bedienen und sich nicht mehr vermehren kann, setzen zufällig hineingeratene Organismen ihre Tätigkeit ein und verunreinigen die Würze. Daraus geht hervor, daß von dem Moment an, wo die Würze so weit abgekühlt ist, daß sich irgend welche Organismen entwickeln können, sofort die Hefe da sein muß, und daraus haben wir den praktisch natürlich nicht ganz wörtlich zu nehmenden Satz gezogen: erst die Hefe in den Bottich, dann die Würze. Die Gepflogenheit, die gekühlte Würze in dem Gärbottich absetzen zu lassen, am nächsten Tage umzupumpen und dann erst mit Hefe zu versetzen, ist durchaus zu verwerfen. Die bei Gärtemperaturen ohne Hefe stehende Würze befindet sich auf einem toten Punkt. Gleiche Verhältnisse haben wir in der fallenden Gärung. Wenn die Haupthefe sich zu Boden setzt, dann arbeitet sie nicht mehr, und ist

dann eine Infektion da, haben wir sofort die Bierkrankheit. Deshalb ist auch mein Rat, welcher ja auch schon in zahlreichen Brauereien befolgt wird, der, daß, was die Reinheit und Haltbarkeit der Biere angeht, dem Grünschlauchen der Vorzug zu geben ist, weil dann die toten Punkte vermieden werden. Man kann das Lauterschlauchen nur dann rechtfertigen, wenn die Lagerkellertemperatur es notwendig macht. Es gehört hierzu indirekt auch noch die hohe Vergärung im Bottich, worauf ich aber nicht weiter eingehen will, auch nicht darauf, daß man gewisse natürliche Hilfsquellen, z. B. den Einfluß der Kohlensäure auf den Stillstand der Vermehrung der Hefe u. s. w., benutzen soll.

Ich will auch einige Einwendungen gegen meine Ausführungen kurz erledigen. Von den Kahm- und Spaltpilzen nahm man bisher an, daß sie sich bei höheren Gärtemperaturen entwickeln würden. Das ist nicht der Fall. Aber wird man auch bei der Gärführung mit höheren Temperaturen dieselbe Glanzfeinheit des Bieres erreichen? Die Hefe hat nebenbei auch noch die Aufgabe, klärend zu wirken; sie soll gewisse überschüssige Mengen von Hopfenharz und Eiweiß, das sogenannte Glutin, herausschaffen. Das kann die Hefe natürlich nur dann, wenn sie zu einer Zeit zugegen ist und im Biere zirkuliert, wo diese Ausscheidungen stattfinden. Glutin wie Hopfenharz scheiden sich aber nur bei ganz niederen Temperaturen aus, und zu derselben Zeit muß also noch Hefe vorhanden sein. Deshalb hat man bisher die niedere Temperaturgärung als eine solche betrachtet, welche eine besondere Glanzfeinheit des Bieres garantiert. Ich kann diesen Einwurf nicht für unberechtigt erklären, aber ich glaube, daß er zu überwinden ist durch Grünschlauchen und sehr kalte Lagerung. Durch das Grünschlauchen gewinnt man eine Menge von Hefe, welche bei kalter Temperatur ihre klärende Wirkung auszuüben vermag.

Man hat nun weiter gemeint, daß bei zu warmer Gärführung ein hefiger Geschmack eintreten würde. Diesen Einwurf kann man nicht ganz abweisen; aber er ist leicht zu entkräften. Es handelt sich eben bei dieser Frage der Temperaturführung darum, sich vor Übertreibungen zu hüten, man wende das Mittel mit Überlegung an, dann wird man auch diesen Fehler zu vermeiden in der Lage sein.

Ich komme nun zu einigen Bedenken, die erheblicherer Natur sind und die Veranlassung gewesen sind, daß ich dieses Kapital von neuem in Arbeit nahm. Das ist zunächst die Frage der Anpassung der Hefe. Sie wissen, meine Herren, daß einer der unangenehmsten Gegner des Brauers die Sarcina ist. Wir wissen aber durch Untersuchungen meines Kollegen, des Herrn Dr. Lindner, daß die Sarcina eigentlich nur dann gefährlich ist, wenn sie als Verunreinigung in der Satzhefe vorkommt, daß es sogar unter Umständen, wenn man gutes gesundes vergorenes Bier hat, sehr schwer ist, wenn man absichtlich die Sarcina hineinbringt, dieselbe zur Entwickelung zu bringen. Also die Sarcina existiert in zwei Zuständen, in einem ungefährlichen und

in einem gefährlichen. Der gefährliche ist der, den sie allmählich erwirbt, indem sie von Satz zu Satz durch die Brauerei durchgeschleppt, durch Anpassung an die niederen Temperaturen sich an das Klima gewöhnt und dadurch befähigt wird, das ganze Bier zu durchwuchern, diesen häßlichen Geschmack hervorzurufen und es dadurch zu verderben. Also wir haben hier ein Beispiel, daß diese kleinen Organismen sich sehr gut anpassen können an die verschiedenartigsten klimatischen Verhältnisse.

Noch ein anderes: Herr Dr. Effront, ein belgischer Chemiker, hat gefunden, daß man Hefe an gewisse Gifte, z. B. an Flußsäure, allmählich gewöhnen kann. Während eine an Flußsäure nicht gewöhnte Hefe durch 2 g Flußsäure im Hektoliter in ihrer Entwickelung beeinträchtigt wird, kann man sie durch successive Gewöhnung so weit bringen, daß sie 250 g Flußsäure zu ertragen imstande ist. Wir haben auf ähnlichem Gebiete auch gearbeitet und statt Flußsäure Salzsäure verwendet und haben gefunden, daß die Hefe durch allmähliche Steigerung der Gabe sich sehr wohl an stärkere Dosen solcher Gifte gewöhnen kann. Wir hofften dadurch für andere Gärungsgewerbe Vorteile zu gewinnen, fanden aber, daß die Spaltpilze, die sehr säureempfindlich sind, dasselbe tun. Monate lang hält sich solche an Salzsäure gewöhnte Hefe rein, und dann tritt plötzlich eine Infektion ein; der Spaltpilz, der sich eingeschlichen hat, hat sich an die starke Dosis gewöhnt und ist dann nicht mehr zu beseitigen. Also Spaltpilze wie Hefen gewöhnen sich an diese Säuren, besonders an starke Gifte.

Nun entstand die Frage: gewöhnt sich die Kulturhefe nicht auch an kalte Temperaturen, ist nicht der Unterschied, den ich gemacht habe zwischen warmen und kalten Hefen, ein rein theoretischer, indem wir im Laboratorium mit ganz anderen Verhältnissen zu tun haben als in der Praxis? Das ist für mich Veranlassung geworden, diese Studien durch Herrn Dr. Rothenbach aufnehmen zu lassen. Wir versuchten Kulturhefe fortzupflanzen bei Lagerkellertemperatur, also bei 2° R. Was war die Folge? Die Hefe entwickelte sich sehr langsam — denn es war ja eine Warmhefe —, sie veränderte auch ihre Form, sie bekam eine langgestreckte Form, die ihre Notlage wohl andeutete. Wir führten auf der anderen Seite die wilde Hefe bei warmer Temperatur, um sie successive an die ihr nicht zusagende Temperatur zu gewöhnen. Diese beiden in so entgegengesetzter Weise beeinflußten Hefen führten wir dann zusammen zu Konkurrenzversuchen und untersuchten das Hefegemisch, welches bestand aus 40 Teilen normaler Kulturhefe und 60 Teilen wilder Hefe, und zwar den einen Teil bei kalter Führung der Temperatur, den anderen bei warmer Führung. Und was war nun der Erfolg? Der Erfolg war: obgleich wir versuchten, die Kulturhefe 2 Monate lang an die kalten Temperaturen zu gewöhnen, schlug die wilde Hefe bei niederen Temperaturen rettungslos die Kulturhefe; nach sechsmaliger Durchführung war die Kulturhefe zurückgegangen auf 5 pCt., obgleich wir nur Bodensatz durchgeführt hatten, aber bei wärmerer Temperatur gelang es nach

sechsmaliger Durchführung, die wilde Hefe absolut zu beseitigen, so daß die Kulturhefe schließlich ganz rein war. Also die Beeinflussung durch Angewöhnung — notabene in der Zeit, während der wir bis jetzt gearbeitet haben; die Versuche werden noch fortgesetzt — hat den Effekt nicht gehabt, daß die Kulturhefe sich in dem Maße an die kältere Temperatur oder die wilde Hefe an die wärmere Temperatur gewöhnte, daß die Gegensätze in den Hefenaturen aufgehoben würden und also die Bezeichnung Warm- oder Kalthefe nicht mehr als richtig anzuerkennen wäre.

Damit bin ich am Schlusse meiner theoretischen Darlegungen angelangt.

Ich habe nun noch versucht, mich in der Praxis zu orientieren, ob man wohl geneigt sei, diesen Ausführungen zu folgen. Ich habe die Mitglieder unserer Stationen aufgefordert, mir ihre Gärungsführung anzugeben, und habe versucht, daraus eine Statistik der Gärführung aufzustellen. Die Antworten sind nicht so reichlich eingegangen, wie ich gehofft hatte, um eine Statistik der Gärungsführung zusammenzustellen. Ich will nur einige Zahlen angeben; sie beziehen sich ausschließlich auf ganz helle Biere. Die Gärzeit für ganz helle Biere wurde bei 50 pCt. in 10 Tagen und weniger beendet. Wenn wir als Stichtag den 9. Tag annehmen, so waren 25 pCt. am 9. Tage, und wenn wir den 8. Tag als Stichtag nehmen, 13 pCt. am 8. Tage fertig; einige führen ihre Gärung für ganz helle Biere mit $6^1/_2$ Tagen zu Ende.

Wie steht es nun mit der Temperatur? Als kalte Führung will ich alles bezeichnen, was angestellt ist mit $4^1/_2°$ und die Temperatur steigen läßt bis 7°; als warme will ich bezeichnen eine Anstellungstemperatur über $4^1/_2°$ und eine Steigerung über 7°. Wie steht es da? Kalt geführt wurden 35 pCt., warm geführt in der Praxis 59 pCt., und bei der warmen Führung sind eine ganze Reihe mit 5° R. angestellt, andere mit $5^1/_2$ und 6° R., ja wir haben 2 — die möchte ich als klassische Zeugen anrufen —, die in der Tat mit fallenden Temperaturen arbeiten, ganz warm anstellen, den Schwimmer einsetzen und allmählich die Temperatur für die Nachgärung herabsetzen. Also ich möchte sagen, daß man in der Praxis sich im großen und ganzen der warmen Führung zuneigt, wenn ich auch nicht verhehlen will, daß auch einige, die im vergangenen Jahre warm geführt haben, wieder zur kalten Führung übergegangen sind, und umgekehrt andere, die kalt geführt haben, wieder zur warmen Führung zurückgekehrt sind. Das sind eben Entwickelungen, die erst in längeren Perioden der Praxis ein konstantes Bild zeigen können. Auch die größte Zahl der Brauereien schlaucht das Bier grün, und wenn jemand das Bier nicht grün schlaucht, hört man in der Regel die Äußerung fallen: ich bin durch hohe Temperatur meines Lagerkellers verhindert, grün zu schlauchen, — wodurch also anerkannt wird, daß es an sich zweckmäßiger wäre, grün zu schlauchen.

Meine Herren, ich habe meinen Ausgang davon genommen, daß ich

sagte: was ich Ihnen vortrage, ist nichts anderes als die alte Praxis, in Regeln gefaßt und ein klein wenig korrigiert, — aber nur wenig; es ist in der Tat immer noch die alte Praxis. Nun, meine Herren, wenn dann die natürliche Reinzucht eine dauernde Bedeutung haben soll für die Brauerei, kann sie diese nur haben, wenn sie ausgeübt wird von dem verständnisvollen Praktiker, wenn das Schifflein der natürlichen Reinzucht von dem einzig zuverlässigen Steuermann geführt wird, nämlich dem Praktiker.

Beiträge zur experimentellen Prüfung der Gesetze der natürlichen Reinzucht.

Von A. Munsche.

(Wochenschrift für Brauerei, 1895.)

Einleitung.

In seiner Abhandlung über „Natürliche Reinzucht" (Wochenschrift für Brauerei, Jahrgang 1895, S. 67) stellte Professor Delbrück die Gesetze der natürlichen Reinzucht auf, nach denen eine Sonderung der Heferassen von einander erfolgen kann. Einige der dort aufgestellten Gesichtspunkte experimentell zu behandeln, war die Aufgabe, mit welcher ich von Herrn Professor Delbrück beauftragt wurde. Wenn auch die im nachfolgenden beschriebenen Versuche nicht nach allen Richtungen hin in erschöpfender Weise durchgeführt worden sind, so ist doch durch die erzielten Resultate der direkte Beweis erbracht worden, daß man sehr wohl auf natürlichem Wege zu Reinzuchten, wenn auch nicht immer im Sinne der wirklichen Reinzucht, welche auf der Zellenauswahl beruht, gelangen kann.

Zunächst suchte ich die beiden von Delbrück bei der Besprechung der natürlichen Reinzucht in der untergärigen Brauerei aufgeworfenen Fragen:

1. Ist es möglich, durch Anwendung der Regeln der natürlichen Reinzucht eine mit wilder Hefe infizierte Kulturhefe von der ersteren wieder zu befreien?
2. Ist es möglich, in der gleichen Weise Kulturheferassen von einander zu trennen?

experimentell zu bearbeiten.

Sodann wurden Versuche angestellt, um zu erfahren, ob es möglich ist, unter Anwendung der Gesetze der natürlichen Reinzucht, in einem Gemisch von ober- und untergärigen Hefen die eine oder die andere zum Absterben zu bringen. Zu den Versuchen, die zuerst gestellten Fragen zu beantworten, wurde das System der Schichtenbildung in Verbindung mit dem Gesetz der

Temperaturwirkung benutzt, während zu den Versuchen der zuletzt angegebenen Art die verschiedene Widerstandsfähigkeit bestimmter Heferassen gegen hohen Alkoholgehalt, hohe Säuremenge und gegen hohe Temperaturen zur Anwendung gelangte.

Gang der Untersuchungen.

Zu den Untersuchungen bediente ich mich mit Watteverschluß versehener, steriler Gärflaschen von $1^1/_2$ bis 2 Liter Inhalt, welche je mit 1 Liter steriler, gehopfter Betriebswürze gefüllt wurden.

Die verwendeten Hefen waren einerseits Hefe Saaz und Hefe Frohberg und andererseits eine wilde, sehr leicht sporenbildende Hefe. Dieselbe war aus einer einem Lagerfaß entnommenen Zwickelprobe von Herrn Dr. Lindner isoliert worden und ist in der Sammlung des Hefereinzucht-Laboratoriums unter Nr. 385 eingetragen. Die Hefen wurden immer in dem gleichen physiologischen Zustande verwendet. Sie waren unter den gleichen Bedingungen im Pasteurkolben gezüchtet und, um größere Hefemengen zu erzielen, im Carlsbergerkolben weiter geführt worden. Vor dem Gebrauch wurden sie jedesmal 5—6 Tage vorher mit frischer Würze aufgefrischt und am Tage, bevor die Versuche zur Anstellung kamen, wurde das Bier abgegossen, die abgesetzte Hefe steril filtriert, zwischen sterilem Filtrierpapier gepreßt und dann verwendet. Zu je 1 Liter Würze wurden 2,25 g Hefe Saaz, bezw. Frohberg und 0,25 g wilde Hefe, entsprechend einem Verhältnis von 90 Gewichtsteilen Kulturhefe und 10 Gewichtsteilen wilder Hefe gegeben. Das Anstellen erfolgte in der Weise, daß die einzelnen Hefemengen in einem sterilen Schälchen abgewogen und hierauf mit Würze innig verrührt wurden. Nach dem Zugeben der angerührten Hefe zu der Gesamtwürze wurde, um eine gleichmäßige Verteilung der Hefezellen zu erreichen, tüchtig durchgeschüttelt. Hierauf wurde mittels steriler Pipette eine geringe Menge aus der angestellten Würze, etwa $^1/_4$ ccm herausgenommen, noch mit der 40—50fachen Menge steriler Würze verdünnt und sodann, nachdem die Zellen sorgfältig durch Schütteln verteilt worden waren, das Zellenverhältnis zwischen Kultur- und wilder Hefe mittels der Lindnerschen Tröpfchenmethode festgestellt.

Um die relative Anzahl der Zellen zu bestimmen, konnte man mehrere Wege einschlagen:

1. die direkte Zählung,
2. die Beobachtung der Askosporenbildung,
3. die Lindnersche Tröpfchenmethode.

Von diesen angeführten drei Methoden sind die beiden erst genannten für unsere Zwecke nicht brauchbar, denn sowohl das mikroskopische Bild wie die Sporenkultur sind zu genaueren quantitativen Bestimmungen von Verhältnissen in Mischungen nicht geeignet. Dieselbe Kulturhefe zeigt oft

neben ihren großen, runden Zellen, verlängerte, auch kleinere Formen, ebenso kann die kleinzellige, wilde Hefe vereinzelt in größeren und runden Formen gleich denen der normalen Hefe auftreten. Aus diesem Grunde gibt die zuerst genannte Methode kein richtiges Resultat. Was die zweite Methode, die Sporenkultur, betrifft, so ist zu bemerken, daß dieselbe ebenfalls keine genauen Resultate geben kann. Die erhaltenen Ziffern würden nur das Verhältnis der Zellen mit Sporen zu denen ohne Sporen angeben, und da nicht sämmtliche Zellen der wilden Hefe zu gleicher Zeit und mit derselben Leichtigkeit Sporen treiben, würde das Untersuchungsresultat die Anzahl der Kulturhefezellen zu hoch angeben.

Eine Methode, die eine quantitative Bestimmung des Verhältnisses der normalen Hefe zu der wilden zuläßt und daher für unsere Zwecke allein geeignet ist, ist die unter 3 angegebene von Lindner aufgefundene Tröpfchenmethode, die von dem genannten Forscher in der „Wochenschrift für Brauerei" 1894, S. 697 ausführlich beschrieben ist. Behufs Feststellung des Zellenverhältnisses durch diese Methode muß die Verdünnung der angestellten Würze so gewählt werden, daß man in jedem auf dem Deckglas mit der Feder aufgetragenen Striche[1]) nicht zu viel Zellen hat, damit beim Auswachsen der einzelnen Zellen ein Zusammenschmelzen der Sproßverbände nicht stattfinden kann. Bis zu 20 Zellen in einem Strich lassen sich noch mit Sicherheit auseinander halten.

Es werden 2 bis 3 Präparate mit ungefähr 30 oder noch mehr Strichen hergestellt, bei Zimmertemperatur stehen gelassen oder, wenn man möglichst bald ein Resultat erhalten will, können die Präparate auch dem Thermostaten bei 25° C. übergeben werden. Je nach der Temperatur, bei der man die Zellen auswachsen läßt, nimmt man die Untersuchung am folgenden Tage oder nach weiteren 24 Stunden vor. Da die einzelnen Zellen in den Strichen an ihren ursprünglichen Stellen bei ruhigem Aufbewahren liegen bleiben und dort auskeimen, so vermischen sich dieselben, wenn man die Probe vor der Anfertigung des Präparates gut durchschüttelt und in einem aufgetragenen Striche die angegebene Zellenanzahl nicht überschritten hat, kann, wenn man nur den richtigen Zeitpunkt der mikroskopischen Durchmusterung nicht verabsäumt. Es kann allerdings vorkommen, daß einzelne Sproßverbände der wilden Hefe sich unter Umständen von dem Hauptsproßverband trennen, eine Erscheinung, welche aber erst in einem fortgeschritteneren Stadium der Vermehrung auftritt; — bei Kulturhefen wurde eine derartige Absonderung nicht beobachtet.

Anstatt mit reiner Bierwürze die Verdünnung herzustellen, ist es daher oft zweckmäßig, mit einem Gemisch gleicher Teile Bierwürze und einer etwa 8prozentigen Würzegelatine zu arbeiten, eine Modifikation, die den Vorteil

1) Zweckmäßig werden die Tröpfchen in Form kleiner Striche aufgetragen, da dieselben ein besseres mikroskopisches Durchsuchen gestatten.

bietet, daß man die mikroskopische Durchmusterung der Präparate auch nach mehreren Tagen, ja nach Wochen noch vornehmen kann, ohne ein Abspringen einzelner Sproßverbände oder gar ein Zusammenschmelzen von Kolonien, welche von verschiedenen Mutterzellen stammen, gewärtigen zu müssen. In dieser verdünnten Gelatine ordnen sich die neu entstandenen Zellen enger an einander, ohne aber, wie es in konzentrierter Würzegelatine der Fall ist, sich so dicht zusammen zu häufen, daß sich die einzelnen Zellen dem mikroskopischen Blick verschließen.

Bei Anwendung der verdünnten Würzegelatine, die zuerst von Herrn Dr. Schönfeld zu ähnlichen Untersuchungen vorgeschlagen und angewandt wurde[1]), verdünnt man am besten die der mit Hefe angestellten Würze entnommene Probe mit der Hälfte der oben angegebenen Würzemenge und fügt hierauf ein gleiches Quantum einer erwärmten 8prozentigen Würzegelatine hinzu und schüttelt gründlich durch.

Während das Wachstum der Kulturhefen in mehr sich streckenden, aber zusammenhängenden Verbänden vor sich geht, erscheinen die wilden Hefen dicht, aber lose beieinander liegend, erstere in oft wurstförmigen Verbänden, deren Zellen sich durch ein körnigeres Protoplasma von den wilden Hefezellen unterscheiden. Letztere sind im allgemeinen kleiner aber gleichmäßiger und weisen besonders im Anfang des Wachstums einen glatteren, lichtbrechenden Inhalt auf.

Die toten, nicht entwickelungsfähigen Zellen, die für unsere Untersuchung belanglos sind, werden bei Anwendung dieser Methode ausgeschlossen.

Mischsaat von Hefe Saaz und wilder Hefe (Nr. 157 der Sammlung).

Die zu den Versuchen verwendete Würze wurde mit 2,5 g des Hefegemisches pro Liter bei 6—7° R. in der oben geschilderten Weise zur Gärung angestellt, das Zellenverhältnis zwischen Hefe Saaz und wilder Hefe wurde nach der Lindnerschen Tröpfchenmethode festgestellt und gefunden, daß 100 Zellen der Mischung sich zusammensetzen aus 81 Zellen der Hefe Saaz und 19 wilden Hefezellen.

Am nächsten Tage wurde in eine frische, sterile Gärflasche behutsam von den zu Boden gegangenen, meistenteils aus toten Zellen bestehenden Hefen abgegossen, wobei oberhalb des ausfließenden Strahles mit einer Flamme flambiert wurde, um ein Einfallen von lebenden Keimen aus der Luft zu verhüten. Die abgegossene Flüssigkeit wurde weiter der Gärung überlassen und nach 3 Tagen wiederum vom Bodensatz mit allen Kautelen

1) Persönliche Mitteilung.

abgegossen. Dieser Satz (Ia) wurde zur Neuanstellung einer Gärung benutzt und das abgegossene Bier (Ib) der weiteren Gärung überlassen. Von jetzt an wurden die von dem Satz und den folgenden Sätzen Ia herrührenden Biere nicht weiter verwendet, nur die in Intervallen von 3, 4, 5 und 9 Tagen gebildete Satzhefen waren weiter geführt worden. Dieses Verfahren ergab, sechsmal durchgeführt, eine Bodensatzhefe, in welcher unter 500 Zellen bloß noch eine wilde Zelle nachweisbar war, der Gehalt an wilden Hefezellen war auf 0,2 pCt. gesunken.

Zu bemerken ist, daß von Satz IVa an mit sterilem Wasser ein bis zweimal nachgewaschen worden war.

Das Bier Ib, welches der weiteren Gärung überlassen worden war, wurde von der nach 3 Tagen abgesetzten Hefe abgegossen und zur Anstellung einer neuen Gärung benutzt Dieses Verfahren des Anstellens neuer Gärung mit Bier, in Intervallen von 4, 5, 6 und 9 Tagen wiederholt, ergab, nachdem bei der vierten Wiederholung das Bier zur Hälfte mit frischer Würze angestellt worden war, in der zweiten darauf folgenden mit dem Bier weitergeführten Gärung (VIb) eine Bodensatzhefe, die ausschließlich wilde Hefe enthielt.

Hefe Frohberg und wilde Hefe (Nr. 385).

In den folgenden zu beschreibenden Versuchen wurde dasselbe Hefegewichtsverhältnis beibehalten wie bei der Hefe Saaz und der wilden Hefe. Die Versuchsbedingungen wurden in der Weise erweitert, daß die Gärungen sowohl bei Zimmertemperatur (10—12° R.) als auch niederen Temperaturen (3—5° R.) geführt wurden.

Versuchsreihe I.

Gärtemperatur 10—12° R. 100 Zellen enthalten 81 Kulturhefezellen und 19 wilde Hefezellen.

Versuch A und B auf Seite 59.

Versuchsreihe II.

Gärtemperaturen zwischen 3—5° R.

Angestellt wurde 1 Liter Würze mit 2,25 g Hefe Frohberg und 0,25 g wilder Hefe.

Versuch A.

Gärtemperatur 4—5° R.

Zellenverhältnis der Kulturhefe zur wilden in der ursprünglichen Mischung	wie 83,0 : 17,0
Zellenverhältnis in der Bodensatzhefe nach 13tägiger Gärzeit. .	„ 69,3 : 30,7

Versuch B.

Gärtemperatur im Anfang der Gärung 4—5° R., im weiteren Verlauf der Gärung 3° R.

Zellenverhältnis der Kulturhefe zur wilden in der ursprünglichen Mischung	wie 83,6 : 16,4
Zellenverhältnis in der Bodensatzhefe nach 13tägiger Gärung. .	„ 40,4 : 59,6

Versuch A. Temperatur 10—12° R.

Angestellt wurde 1 Liter Würze mit 2,25 g Hefe Frohberg und 0,25 g wilder Hefe.

I (4. Oktober).

Mischung (Zellenverhältnis der Kulturhefe zur wilden wie 81 : 19)

I^a (6. Oktober)

Oberes Drittel der gärenden Würze, abgegossen von I nach 44 Stunden. Zellenverhältnis 91,7 : 8,3. Nach Hinzugabe frischer Würze weiter gären gelassen bis zum 9. Oktober.

I^{aa} (9. Oktober)

Oberes Drittel von I^a Zellenverhältnis 94,7 : 5,3.

I^{bc} (6. Oktober)

Zurückbleibendes Bier (nach Abgießen des oberen Drittels) + Bodensatzhefe, wird der Gärung bis zum 11. Oktober überlassen

I^b (11. Oktober)

Verbleibendes Bier, gärt weiter bis zum 23. Oktober. Das von dem gebildeten Bodensatz abgegossene Bier wird mit frischer Würze versetzt.

I^{bb} (23. Oktober)

Verbleibendes Bier, gärt nach Zugabe frischer Würze weiter bis zum 1. November. Von der gebildeten Bodensatzhefe wird abgegossen.

I^{bbb} (1. November)

Verbleibendes Bier. Die sich absetzende Hefe besteht ausschließlich aus wilden Hefezellen.

I^c (11. Oktober)

Bodensatzhefe; frei von wilder Hefe. (400 durchmusterte Zellen waren ausschließlich normale Hefen.) Die Bodensatzhefe wurde zur Neuanstellung verwendet.

I^{ca} (12. Oktober)

Oberes Drittel der gärenden Würze war nach 24 Stunden abgegossen worden. Keine wilde Hefe nachweisbar.

Versuch B. Temperatur 10—12° R.

Angestellt wurde 1 Liter Würze mit 2,25 g Hefe Frohberg und 0,25 g wilder Hefe. Das Verhältnis der normalen Zahlen zu den wilden war nach dem Entfernen der zuerst abgesetzten Bodensatzhefe (14 Stunden) festgestellt worden.

I (16. Oktober)

Mischung (Zellenverhältnis der Kulturhefe zu der wilden wie 81 : 19)

I^a (18. Oktober)

Oberes Drittel von I. Zellenverhältnis 97 : 3. Nach Zugabe von frischer Würze weiter gären lassen bis zum 20. beziehungsweise 21. Oktober

I^{aa} (20. Oktober)

Oberes Drittel v. I^a Zellenverhältnis 97 : 3.

I^{ab} (21. Oktober)

Bodensatzhefe v I^a. Zellenverhältnis 97,7 : 2,3.

I^b (23. Oktober)

Bodensatzhefe von I. Zellenverhältnis 96,9 : 3,1. Die Bodensatzhefe wurde zur Neuanstellung benutzt.

I^{bb} (29. Oktober)

Bodensatzhefe von I^b. Zellenverhältnis 98,5 : 1,5. Bevor man die Bodensatzhefe zur Neuanstellung verwendete, wurde sie erst zweimal mit sterilem Wasser gewaschen.

I^{bb} (7. November)

Bodensatzhefe von I^{bb}. Zellenverhältnis 99,1 : 0,9.

Versuch C.

(Fortsetzung von S. 58.)

Bedingungen wie bei Versuch B.

Zellenverhältnis der Kulturhefe zur wilden in der ursprünglichen Mischung . . . . . wie 84,2 : 15,8
Zellenverhältnis in der Bodensatzhefe nach 5tägiger Gärung . . „ 62,5 : 37,5

Die letztere Bodensatzhefe zur Neuanstellung verwendet, ergab ein Zellenverhältnis von Kulturhefe zu wilder nach 6tägiger Gärung von 51,7 : 48,3.

Wie aus den Versuchen ersichtlich ist, gelang es, bei Temperaturen von 10 bis 12° R. die Kulturhefe durch dreimalige Umzüchtung von der wilden Hefe in dem einen Falle (Versuchsreihe I, Versuch A) vollständig und einem zweiten Versuch (B) bis auf 0,9 pCt. zu befreien. Die Analyse der Proben, welche am Anfange der Hauptgärung den oberen Schichten der gährenden Flüssigkeit entnommen waren, ergab eine Abnahme der wilden Hefezellen im Verhältnis zur Kulturhefe. Das nach dem Abgießen des oberen Drittel der Flüssigkeit verbleibende Bier wurde der weiteren Gärung überlassen und nach 7 Tagen von der abgesetzten Hefe (Versuch A Ic) abgegossen. Das Bier Ib der Gärung überlassen, hatte nach 12 Tagen einen Bodensatz gebildet, von dem wieder abgegossen wurde. Jetzt wurde das Bier mit frischer Würze zur Neuanstellung verwendet und nach einer 8tägigen Gärzeit die Flüssigkeit von der gebildeten Bodensatzhefe getrennt. Das Bier, welches langsam weiter vergor, setzte eine Hefe ab, welche ausschließlich aus wilden Hefezellen bestand.

Die hier gewonnenen Resultate mußten das Interesse erwecken, durch Versuche experimentell festzustellen, wie sich die beiden Hefen in der Konkurrenz miteinander gegenüber niederen Temperaturen verhalten.

Wie die Versuchsreihe II lehrt, zeigte es sich, daß bei 4—5° R. die nach 13 Tagen gebildete Bodensatzhefe einen Prozentgehalt von 30,7 an wilder Hefe aufwies bei einem ursprünglichen Gehalt von 17 pCt. (Versuch A). Bei Anwendung einer Temperatur von 3° R. enthielt die Bodensatzhefe nach 13 Tagen 59,7 pCt. wilde Hefe, gegenüber einem ursprünglichen Gehalt von 16,4 pCt. (Versuch B) und in einem anderen Falle (Versuch C) nach 5 Tagen bei derselben Temperatur 37,5 pCt.

Diese Bodensatzhefe von neuem mit Würze angestellt, ergab nach 6tägiger Gärung 48,3 pCt. wilde Hefezellen.

Hieraus folgt, daß in dem Konkurrenzkampf die niederen Temperaturen der Entwickelung der Kulturhefen hemmend sind, ihre Widerstandskraft wird gelähmt und die wilde Hefe, welche gegen niedere Temperatur weniger empfindlich ist, gewinnt jetzt unter den für jene ungünstigeren Bedingungen die Oberhand. Daß die wilde Hefe bei höheren Temperaturen im Konkurrenzkampf mit der Kulturhefe unterliegt, hat seinen Grund darin, daß die von vornherein in fünfmal größerer Menge vorhandene Kulturhefe

durch die für sie günstige Temperatur von 11° R. keine Hemmung in ihrer Entwickelung erleidet, sie geht infolgedessen aus dem Konkurrenzkampf als Sieger hervor. Für diejenigen wilden Hefezellen, welche am Schluß der Hauptgärung nach einer bereits in der Hauptsache erfolgten Sonderung der Kulturhefe, sich noch in der Flüssigkeit befinden, kommt die Konkurrenz gegen Kulturhefen kaum mehr in Betracht. Es handelt sich jetzt nur noch um eine mechanische Trennung, welche auf dem früheren Absetzen der eher Bruch gebenden normalen und der wegen ihrer Zellenkleinheit und vielleicht wegen ihres geringeren spezifischen Gewichts langsamer sich absetzenden wilden Hefe beruht.

Inwieweit sich die geringere Widerstandskraft von Kulturheferassen gegenüber den wilden Hefen bei niederen Temperaturen durch das von Prior[1]) angenommene verschiedene Durchlässigkeitsvermögen der Zellmembran der einzelnen Heferassen erklären läßt, muß dahin gestellt bleiben, da Prior die Gärungsenergie, aus der er auf die Dichte der Zellmembran schließt, ausschließlich bei einer Temperatur von 30° C. bestimmt hat. Daß die einzelnen Heferassen bei anderen Temperaturen bezüglich ihrer Gärungsenergie sich anders verhalten, ist höchst wahrscheinlich.

Daß die wilden Hefen im Lagerkeller auf dem Lagerfasse bei niederen Temperaturen zur Entwickelung gelangen, war allerdings schon lange bekannt, daß aber die Ursache allein in den niederen Gärtemperaturen zu suchen ist, dafür war bis jetzt der experimentelle Beweis noch nicht erbracht worden.

Nach den Ergebnissen der bei verschiedenen Temperaturen ausgeführten Konkurrenzversuche zwischen Kultur- und wilden Hefen erscheint es nicht unberechtigt, die Frage aufzuwerfen, ob es nicht zweckmäßig sein wird, in Fällen eines Nachweises von Spuren wilder Hefe in Kulturheferassen anstatt der üblichen Temperatur von 25° C. eine niedere Temperatur zum Auffrischen der zu untersuchenden Hefe zu benutzen.

Hefe Saaz und Hefe Frohberg.

Versuche, welche, um die Hefe Saaz von Frohberg zu trennen, angestellt wurden, sind nicht vollständig gelungen. (Erst viel später gelang es Schönfeld, erfolgreiche Trennungsversuche zu machen. Siehe S. 113.)

1) Bayer. Brauer-Journal 1894, S. 169.

Die Entfernung der wilden Hefe aus infizierter Betriebsunterhefe durch natürliche Reinzucht.

(Nach Ergebnissen zweier in der Praxis ausgeführter Versuche.)

Von **A. Munsche.**

(Wochenschrift für Brauerei, 1895.)

Einleitung.

Durch Laboratoriumsversuche war der experimentelle Beweis erbracht, daß man sehr wohl auf natürlichem Wege, wenn auch nicht immer im Sinne der absoluten Reinzucht, welche auf der Zellenauswahl beruht, zur Sonderung von Heferassen gelangen kann. Das dort erzielte Resultat mußte eine große praktische Bedeutung haben, wenn es gelang, eine mit wilder Hefe infizierte Betriebshefe auch in der Praxis nach den in Betracht kommenden Regeln der natürlichen Hefereinzucht von ersterer wieder zu befreien.

Ein befreundeter Braumeister (Pauzner) erbot sich in zuvorkommendster Weise, die praktische Prüfung der Versuche in der von ihm geleiteten Brauerei ausführen zu lassen; der Versuch wurde gemacht, das Resultat: nach zweimaligem Durchgehen war die verunreinigte Anstellhefe vollkommen von wilder Hefe befreit. Dieser überraschende Erfolg der Versuchsanstellung, die ich im Auftrage des Herrn Professor Delbrück an Ort und Stelle ausführte und wissenschaftlich überwachte, gab einen schlagenden Beweis für die praktische Bedeutung der natürlichen Hefereinzucht im Sinne Delbrücks. Ob andere wilde Heferassen als die hier benutzte, eine in der Versuchsbrauerei gefundene wilde Hefe, sich in derselben Weise verhalten, müßte allerdings erst durch weitere Versuche festgestellt werden.

Gärführung und Hefebehandlung.

Vor der Besprechung der Versuchsanstellung seien einige Worte über die Gärführung und die Behandlungsweise der Hefe in jener Brauerei vorausgeschickt. Daselbst wird mit im Laboratorium der Versuchs- und Lehranstalt her-

gestellter Reinzuchthefe vom Typus Frohberg gearbeitet, welche bis zu 10mal durch den Betrieb geht. Die Hefe wird nicht kassiert, weil dieselbe etwa ungeeignet zur weiteren Gärung geworden wäre, sondern weil ein entsprechender Turnus mit der Neuanstellung der Reinhefe in der Lindnerschen Trommel, welche in dieser Brauerei als Reinzuchtapparat benutzt wird, eingeführt ist. Die Würze läuft über das Kühlschiff nach dem Kühlapparat und von da in die Gärbottiche. Der erste Bottich wird gleich voll laufen gelassen, das übrige Quantum auf die drei anderen Bottiche verteilt, und zwar in der Weise, daß der Rest nur auf den letzten Bottich zur Verteilung gelangt. Die Satzzüchterei erfolgt ausschließlich in den beiden mittleren Bottichen, in die die Würze in dem verhältnismäßig reinsten Zustande gelangt.

Hergestellt wird hauptsächlich Lagerbier und als Spezialität ein Bier nach Pilsener Art. Besprochen wird im folgenden nur die Gärführung, welche bei der Herstellung des Lagerbieres beobachtet wird. Die Anstellung erfolgt bei 6° R. mit $^1/_2$ Liter dickbreiiger Hefe pro Hektoliter Würze. Am vierten Tage der Gärung ist die Temperatur auf 8—8,5°, unter Umständen auch noch höher gestiegen. Bei dieser Temperatur wird ein und einen halben Tag gehalten und dann langsam, etwa jeden Tag um 1° R., zurückgekühlt und am 7. Tage mit 5° R. geschlaucht.

Es wird Gewicht darauf gelegt, daß die Abkühlung nur sehr allmählich erfolgt. Ein Übermaß an Eis und Kälte stört die jungen Hefenzellen in der Entwickelung, sie wachsen nicht aus und setzen sich nicht ab. Die Folge davon ist kein oder ein höchst mangelhafter Bruch.

Der Bruch läßt nach siebentägiger Gärung nichts zu wünschen übrig, er ist grobgrießig und feurig, wenn das Bier zum Fassen kommt. Die gewonnene Hefe ist schön weiß und liegt fest im Bottich. Das mit einer scheinbaren Vergärung von etwa 58 pCt. gefaßte Bier zeigt in der Volumeneinheit[1]) 0,6—1,0 Hefezellen. Nach einer durchschnittlich zweimonatlichen Lagerzeit kommt das Bier zum Ausstoß und wird teils als Faß-, teils als Flaschenbier zum Verkauf gebracht, ist als solches äußerst haltbar und angenehm im Geschmack.

Der von den beiden mittleren Hefen gewonnene Zeug, welcher als Saathefe zur Verwendung gelangt, wird zunächst durch ein feines Haarsieb von den beigemengten Harz- und Trubteilen befreit und dann in einem hohen, etwa 3 hl fassenden Gefäße abgeschlämmt. Das Abschlämmen wird so oft durchgeführt, bis das Wasser hell abläuft. Mit dem Ablassen kann sogleich nach dem Aufrühren begonnen werden, und zwar geschieht dies dort in einer sehr einfachen, zweckentsprechenden Weise. Anstatt der sonst an dem Schlämmgefäß angebrachten Zapfen, die einzeln ausgestoßen werden

1) Als Volumen Einheit gilt eins der auf dem Boden der Zählkammer der 400 eingeätzten Quadrate von 0,05 mm Seitenlänge.

müssen, damit das Waschwasser von oben ablaufen kann, ist in der Wandung des Gefäßes, etwas oberhalb der sich absetzenden Hefe, ein gewöhnlicher Hahn eingesetzt, an dessen innerem Ende ein Gummischlauch von etwa 3 cm Durchmesser befestigt ist. An der oberen Öffnung dieses Schlauches befindet sich ein Schwimmer, der in der primitivsten Art aus einer verkorkten Bierflasche bestehen kann. Beim Öffnen des Hahnes fließt das Wasser allmählich von oben ab, wobei das offene Ende des Gummischlauches durch den Schwimmer immer in der Höhe der Wassersäule gehalten wird.

Wir werden weiterhin sehen, daß das Schlämmen der Hefe für die Reinheit und Gleichmäßigkeit der Nachzucht von großer Wichtigkeit ist. Es sei hier nur noch darauf hingewiesen, daß nach den in erwähnter Brauerei gemachten Erfahrungen durch die Manipulation des Schlämmens die Hefe keineswegs geschwächt wird; im Gegenteil, die Hefe vergärt nach dieser Behandlung kräftiger. Wir teilen daher die Ansicht von Prof. Heinrich Fischer Mödling[1]) vollkommen, wenn er die gegenteilige Ansicht mancher Brauer als eine irrige hinstellt. Die Ursache, daß unter Umständen die Vergärung auf dem Bottich nach dieser Behandlung eine niedrigere wird, besteht nach unserem Dafürhalten nicht in einer Schwächung der Hefe, sondern beruht darauf, daß durch das wiederholte und rasch hintereinander durchgeführte Schlämmen nur diejenigen Hefezellen zum Absetzen kommen, die sich schnell zusammenballen. Im allgemeinen sind es die Hefezellen, welche früh Bruch geben, sich frühzeitig absetzen und infolge dessen einen geringeren Vergärungsgrad geben. Tritt diese Erscheinung ein, und wünscht man wieder eine höhere Vergärung, so wird man das Abschlämmen nicht so oft und weniger rasch durchführen.

Diese etwas längere Abschweifung war nötig, um zu zeigen, durch welch einfache Behandlungsweise der Brauer es oft in der Hand hat, sich dauernd eine reine, gleichmäßige und brauchbare Hefe zu sichern. Nun zu unserer Versuchsanstellung.

Reinigung durch Gärung.

Die benutzte verunreinigte Hefe bestand einerseits aus der Betriebshefe der Brauerei und andererseits aus derselben wilden Hefe[2]), welche zu den früheren Laboratoriumsversuchen verwendet wurde.

Letztere war bei Zimmertemperatur in größerer Menge im kleinen Lindnerschen Reinzuchtapparat gezüchtet und nach vollständiger Vergärung in gepreßtem Zustande transportiert worden. Der Versuch wurde in einem Bottich von etwa 10 hl Inhalt in der folgenden Weise ausgeführt. Vier Liter Betriebshefe wurden mit der ½ Liter betragenden wilden Hefe im

[1]) Der Böhmische Bierbrauer 1895, S. 130; Wochenschrift f. Br., 1895. S. 271.

[2]) Wochenschrift f. Br., Jahrg. 1895, S. 190.

Zeugschaffel innig gemischt, mehrmals aufgezogen und der Gesamtwürze im Bottich zugesetzt.

Die Anstelltemperatur betrug bei einer Gärkellertemperatur von 4,5° R. nahezu 7° R. Nachdem noch einige Male tüchtig aufgezogen worden war, wurde mittels eines an einem Faden befestigten sterilen Fläschchens eine Durchschnittsprobe entnommen und das Verhältnis der normalen zur wilden Hefe nach der Lindnerschen Tröpfchenmethode festgestellt. In der bereits früher beschriebenen Weise wurden im allgemeinen zwei bis drei Präparate angefertigt und 300 bis 500 Zellkolonien durchmustert. Die Hefemischung ergab bei der mikroskopischen Durchsicht der Tröpfchen auf 300 normale 50 wilde Hefezellen, entsprechend einer Infektion von 14,3 pCt.

Nach 42stündiger Gärung, als sich der Übergang der niederen Kräusen in die hohen bemerkbar machte, wurde auf einen gleich großen Bottich übergepumpt, um so die unterste Hefenschicht zu entfernen. Zugleich war durch das Umpumpen und durch die damit verbundene Lüftung die Anregung zu einer energischen Tätigkeit der Hefe gegeben.

Die im Bottich zurückgebliebene Hefenschicht hatte eine Höhe von etwa 2 mm und bestand zum größten Teile, abgesehen von mechanischen Verunreinigungen, aus lebenden normalen Hefezellen, etwa 70 pCt., während die übrigen 30 pCt. sich so verteilten, daß 14,5 pCt. aus abgestorbenen normalen, 14,0 pCt. aus eben solchen wilden und nur 1,5 pCt. aus wilden lebenden Hefen bestanden.

Nach dem Umpumpen wurde mittels Schwimmers etwas angewärmt, so daß am vierten Tage nach dem Anstellen eine Temperatur von 10° R. erreicht war.

Quantitative Bestimmung der Verunreinigung in den einzelnen Hefeschichten.

Zu gleicher Zeit waren drei größere Glasschalen in den Bottich bis auf den Boden eingehängt und der Reihe nach am zweiten, dritten und fünften Tage nach dem Umpumpen, die letzte also am Tage des Schlauchens, herausgenommen worden. Bei der Untersuchung der einzelnen Schichten zeigte es sich, daß der Satz der zuerst herausgehobenen Schale die geringste Infektion, 0,5 pCt. wilde Hefe, auswies. Die am dritten Tage nach dem Umpumpen aus dem Bottich entnommene Schale, deren Hefeschicht 16 mm hoch war, wovon die unterste Partie von 6 mm Höhe der ersten Hefeschicht angehörte, enthielt in etwa 11 mm Höhe 1,5 pCt. wilde Hefe, während die am Tage des Schlauchens entnommene Probe in der oberen 2 mm starken Schicht einen Gehalt an wilder Hefe von 5,5 pCt. zeigte.

Bei Betrachtung dieser Befunde läßt sich konstatieren, daß die reinste, die am wenigsten infizierte Hefe, in der unteren Hälfte der mittleren Schicht der gesamten Satzhefe zu suchen ist. Man wird gut tun, bei der zur Fortpflanzung bestimmten Samenhefe nicht bloß die leichte auf der Kernhefe sitzende Schicht, sondern auch etwas von der Kernhefe selbst mit der Zeugkrücke wegzunehmen.

Kehren wir nun wieder zu der Gärung in unserem Versuchsbottich zurück, so finden wir, daß das Bier nach 6 Tagen bereits soweit durchgefallen war, daß am 7. Tage geschlaucht werden konnte. Das Bier zeigte eine scheinbare Vergärung von 62,8 pCt. und enthielt in der Volumen-Einheit 2,9 Zellen, also etwa 2 Zellen mehr als im normalen Bottich. Geschlaucht wurde auf separate Fässer, so daß die Beschaffenheit des Bieres seinerzeit festgestellt werden kann. Wie ja auch zu erwarten war, konnte von „Bruch" wegen der staubigen Beschaffenheit der wilden Hefe beim Schlauchen keine Rede sein. Geschmack und Geruch des Bottichbieres waren nicht gerade unangenehm, es fragt sich nur, welche Veränderung dasselbe in dieser Beziehung bei der Lagerung erfahren wird.

Allem Anschein nach klärt sich das Bier auf dem Lagerfaß äußerst langsam, wie aus einer bezüglichen Mitteilung des Herrn Braumeisters zu entnehmen ist.

Wir sind nun gespannt, welches Resultat wir durch unsere Versuchsanstellung erzielt haben und suchen zunächst zu ermitteln, wie viele von den Zellen der gewonnenen Hefe der normalen und der wilden Hefe angehören. Die Tröpfchenkultur ergab in von 460 zur Aussaat gelangenden Zellen bei der Entwicklung 440 normale und 20 wilde Hefen.

Es war somit gelungen, bei Temperaturen von 7—10° R. in Verbindung mit dem Gesetze der räumlichen Sonderung die Kulturhefe durch einmalige Umzüchtung von einer ursprünglichen Infektion von 14,3 pCt. wilder Hefe bis auf 4,3 pCt. zu befreien.[1])

Das geschlauchte Bier, in gleicher Weise mit Tröpfchenkultur untersucht, ergab zu gleichen Teilen normale und wilde Hefe, während die direkte Zählung nach dem mikroskopischen Bilde vor dem Auswachsenlassen in den Tröpfchen ein Zellenverhältnis von normalen zu wilden Zellen wie 40 : 60 lieferte. Somit erwiesen sich bloß zwei Drittel der wilden Hefe als entwicklungsfähig.[2]) Es mag dies bei dieser Versuchsanstellung darauf zurück-

1) Merkwürdig ist, daß die Verunreinigung in der Kernhefe nach beendeter Hauptgärung eine größere ist, als nach dem Ergebnisse der Untersuchung der einzelnen Schichten in den Schalen, die zu verschiedener Zeit dem Bottich entnommen wurden, zu erwarten war. Dieser Befund deutet darauf hin, daß infolge der lebhaften Bewegung die im Bottich zu unterst liegenden Schichten während der Gärung sich lockern, in die Höhe gehen und sich mit der gärenden Flüssigkeit vermischen. Hierbei findet auch eine Vermischung mit den Hefen der oberen Schichten statt, Unebenheiten in denselben werden verursacht, und schließlich gelangen gegen Ende der Gärung, wenn die Bewegung eine gemäßigtere wird, wieder wilde Hefen in die mittleren Schichten mit herein. (Vergl. hierzu die bereits vor Jahren gemachten Beobachtungen des Braumeisters Holderer, Wochenschrift für Brauerei 1886, S. 631; auch 1892, S. 774.)

2) Gezählt wurden 500 Zellen, von denen nach der direkten Zählung vor dem Auswachsen im Tröpfchen sich 300 als wilde Hefe erwiesen. Das Verhältnis von normalen zu wilden Zellen war daher 200 : 300 oder 40 : 60. Von den 500 Zellen hatten sich 388 entwickelt, hiervon waren 195 Zellen normale und 193 wilde Hefen, das ist ein Zellenverhältnis wie 1 : 1. Ein Drittel der wilden Hefenzellen war somit nicht entwicklungsfähig, also tot gewesen.

zuführen sein, daß die dem Reinzuchtapparate nach vollständig beendeter, bei Zimmertemperatur geführter Gärung entnommene wilde Hefe in einem der Kulturhefe gegenüber weniger günstigen physiologischen Zustande den Konkurrenzkampf aufzunehmen hatte. Diejenige wilde Hefe, welche bereits zu Beginn der Gärung aus alten und weniger kräftigen Individuen bestand, mußte in der Konkurrenz mit der Kulturhefe zu grunde gehen, wenn sie sich auch, unter gleichen Bedingungen für sich geführt, als entwicklungsfähig erwiesen hätte.

Reinigung durch Schlämmen.

Wenden wir uns nun wieder dem nach einmaliger Gärführung gewonnenen Satze zu, der noch eine Verunreinigung von 4,3 pCt. wilder Hefe enthielt, so war anzunehmen, daß sich nach der eingangs beschriebenen Schlämmmethode ganz mechanisch eine Trennung der leichteren, sich nicht ballenden Hefen, zu denen die wilden Hefen gehören, vornehmen läßt. Zu diesem Zwecke wurde die ungewaschene Hefe zunächst mit Wasser durchgerührt und hierauf durch ein feines Haarsieb gegossen. Die abgesiebte Hefe wurde dann in bekannter Weise abgeschlämmt. Das Abschlämmen wurde rasch durchgeführt; in zwei Stunden war das Wasser sechsmal gewechselt. Die Hefe wurde durch das im Boden des Schlämmgefäßes befindliche Zapfloch in eine flache Hefewanne ausgelassen und bei Gärkellertemperatur unter Wasser bis zum Anstellen bereit gehalten.

Zweite Gärung.

Die nun folgende zweite Gärung mit der auf die angegebene Weise gewaschenen und geschlämmten Hefe wurde in demselben, zuvor gründlich gereinigten Bottiche geführt. Zur Anstellung gelangten etwa 9 hl auf 7,5° abgekühlter Würze. Nach Zugabe von 4 Litern dickbreiiger Hefe wurde gehörig aufgezogen und die Gärung sich selbst überlassen.

Eine dem Bottich entnommene Durchschnittsprobe ergab nach der Tröpfchenmethode unter 440 Hefezellen 436 normale und 4 wilde Hefen oder mit anderen Worten: Die ursprünglich mit 14,3 pCt. wilder Hefe infizierte Anstellhefe war nach einmaliger unter den oben näher beschriebenen Verhältnissen geführten Gärung unter Beobachtung eines etwas scharfen Abschiebens der oberen Hefeschicht und einer rationellen Durchführung des Hefeschlämmens bis auf 0,9 pCt. befreit worden.

Umgepumpt wurde diesmal nicht. Die Temperatur erreichte am vierten Tage, ohne daß Anwärmung mittels Schwimmers stattfand, die Höhe von 9,5° R. Am Abend wurde bereits ein Zurückgehen der Kränsen bemerkbar; die vorgenommene Hefenzählung ergab in der Volumen-Einheit 13 Zellen. Tags darauf wurde geschlaucht, die Temperatur war auf 9° herunter-

gegangen. Eine jetzt ausgeführte Hefenzählung wies in der Volumen-Einheit noch 8 Zellen auf, Bruch war nicht vorhanden.

Das Bier wurde zum Teil für sich geschlaucht und soll ebenso wie das erstere beim Ausstoß einer Prüfung auf Infektion, Haltbarkeit und Geschmack unterzogen werden.

Die nach dem zweitenmal Durchgehen gewonnene Bodensatzhefe enthielt ausschließlich normale Hefezellen. Durchgemustert im Tröpfchen wurden 500 Zellen, welche insgesamt sich als Kulturhefezellen erwiesen. Die Analyse der gewaschenen und geschlämmten Hefen, welche der Braumeister, ohne irgend ein Bedenken zu tragen, im Betriebe weiterführt, ergab bei einem Durchsuchen von über 1000 Zellen als Resultat: die vollständige Befreiung des Satzes von wilder Hefe.

Auf Grund dieses Ergebnisses kann man zu keinem anderen Schlusse kommen, als daß für die Praxis die Bedingungen, Kulturhefe von wilder Hefe zu befreien, mindestens ebenso günstig liegen wie bei den Versuchen im kleinen.

Wiederholung des Versuchs in der Versuchsbrauerei.

Betreffs der Versuchsanstellung könnte der Einwand erhoben werden, daß die beiden Hefen nicht in dem gleichen physiologischen Zustande zur Verwendung gelangten. Die wilde Hefe mußte nach Art der Züchtung aus älteren, weniger gärtüchtigen Individuen bestehen, die beim Eintreten in den Konkurrenzkampf der Kulturhefe nicht die gleiche Widerstandskraft entgegenzustellen vermochten wie junge, kräftige Zellen. Wir hielten daher eine Wiederholung des Versuches in unserer Versuchsbrauerei für ratsam. Bei der Ausführung wurden wir in dankenswerter Weise durch Herrn Braumeister Ahrens unterstützt. Die wilde Hefe wurde jetzt nicht nach beendeter Gärung, sondern bereits am dritten Tage nach dem Überimpfen dem Lindnerschen Reinzuchtapparate im Kräusenstadium entnommen und in einen zur Hälfte mit steriler Würze gefüllten kleinen Herführbottich gegeben. Hierdurch wird die Bildung junger, kräftiger Zellen veranlaßt, und somit sind auch die Bedingungen zur ferneren Entwicklung die denkbar günstigsten; die wilde Hefe ist in dieser Hinsicht von vornherein der Kulturhefe gegenüber im Vorteil. Sobald die Gärung im Herführbottich angekommen war, wurden 3½ Liter dickbreiige Betriebshefe eingerührt und nach mehrmaligem gründlichen Aufziehen der Gesamtinhalt dem bis zu zwei Dritteln mit auf 7 °R. abgekühlter Würze gefüllten Bottich zugesetzt. Alsdann wurde mit Würze vollgefüllt und das Ganze, etwa 8 hl, mehrmals tüchtig aufgezogen. Am andern Tage wurde angewärmt, die Temperatur stieg auf 10° R. Nach Verlauf von 42 Stunden wurde umgepumpt und nun die Gärung sich selbst überlassen. Die Temperatursteigerung ging bis zu 12° R., beim Schlauchen am 6. Tage war die

Temperatur bis auf 8,8°R. gesunken. Die Gärung war absichtlich höher geführt worden als bei dem ersten Versuch, da sich bei der Analyse des Saatgemisches eine Verunreinigung von 24,5 pCt. wilder Hefe herausstellte. Die Befürchtung, daß bei dieser hohen Gärführung die Entwickelung von Kahm auftreten könnte, erwies sich als nicht zutreffend. Bier sowohl wie Hefe waren frei von dieser Infektionshefe.

Auf eine Erscheinung, die jedenfalls durch die energische bei 12° R. geführte Gärung veranlaßt wurde, mag hier hingewiesen werden. Nach dem Umpumpen stieg die Temperatur innerhalb 12 Stunden von 11°R. auf 12°, die Gärung verlief sehr heftig, und am nächsten Tage zeigte sich auf der Oberfläche, untermischt mit ausgeschiedenen Harz- und Trubteilen, eine dichte Hefedecke, die sich bis zu Ende der Gärung hielt. Die Gärungen in den mit derselben Betriebshefe angestellten großen Bottichen verliefen bei niederen Temperaturen normal.

An eine Infektion mit obergäriger Hefe war nicht zu denken; auch ergab die Untersuchung der Deckenhefe die Abwesenheit von obergärigen Hefezellen[1]), dieselbe bestand zum größten Teile aus normalen Unterhefezellen, vermischt mit Spuren wilder Hefe.

Diese Decke wurde beim Schlauchen abgenommen und das Bier ohne Bruch bei einer Zellenanzahl von 8,7 in der Volumen-Einheit mit einer scheinbaren Vergärung von 69 pCt. auf zwei kleinere Fässer gefüllt.

Nach achttägiger Lagerung sind dieselben leider infolge eines Mißverständnisses ihres Inhaltes entleert worden; nach Angabe des Braumeisters war das Bier tot, stark trüb und von unangenehmem Geruch.

Die Tröpfchenkultur ergab in dem Biere beim Schlauchen unter 490 entwicklungsfähigen Zellen 146 normale und 344 wilde Hefen. Hieraus berechnet sich ein Gehalt von 70,2 pCt. wilder Hefe.

Die gewonnene Bodensatzhefe, welche bei der Aussaat sich zusammensetzte aus 75,5 pCt. Betriebshefe und 24,5 pCt. wilder Hefe, war nach einmaliger Umzüchtung bei einer Gärführung von 7° — 12° — 9° R.

---

1) Der Nachweis der Abwesenheit von obergäriger Hefe wurde in folgender Weise erbracht. Eine Durchschnittsprobe der Hefe wurde mit steriler Würze innig verrührt und gut durchgeschüttelt, hierauf mittels der Zählkammern die Anzahl der Zellen in der Volumen-Einheit festgestellt und sodann die Verdünnung mit steriler Würze so gemacht, daß sich in einem Tropfen nicht mehr als eine Zellkolonie entwickeln kann. Diese „Tropfenkultur" legt man in sterilen Petrischalen an, wobei die Tropfen mittelst einer sterilen, kleinen Pipette sowohl auf der unteren wie oberen Seite des Schalenpaares getupft werden. Um ein Eintrocknen der Würzetropfen zu verhüten, werden die beschickten Schalen in einer feuchten Kammer gehalten. Bei ruhiger Lage beobachtet man bereits nach 2—3 Tagen die sich entwickelnden Zellkolonien als weiße, zusammenhängende Flecken. Haben dieselben eine hinreichende Größe erreicht, so werden sie mit einem ausgeglühten Platindraht einzeln verrührt. Untergärige Bierhefe setzt sich flockig ab, obergärige nicht. Diese Methode des Nachweises von obergäriger, bezw. untergäriger Hefe stammt von Lindner (Bonner Brennerei-Ztg. 1891, S. 910). Sie wurde zum quantitativen Nachweis in der beschriebenen Weise modifiziert.

von letzterer bis auf 3,4% befreit worden. Die Hefe erfuhr weiterhin die gleiche Behandlung wie bei der ersten Versuchsanstellung. Nach fünfmaligem Schlämmen wurde eine Hefe erhalten, in welcher unter 900 Zellen bloß noch eine wilde Hefezelle nachweisbar war, der Gehalt an wilden Hefen war auf 0,1 pCt. gesunken.

Zweite Gärung.

Mit vier Litern auf diese Art gereinigter Hefe wurde eine zweite Gärung angestellt, die unter den gleichen Bedingungen wie bei der ersten Versuchsanstellung geführt wurde. Die Temperatur stieg ohne künstliches Anwärmen von 7,5° R. bis auf 10,6° bei einer Kellertemperatur von 4,5° R. Am 7. Tage wurde bei leidlichem Bruche und einem scheinbaren Vergärungsgrad von 70 pCt. mit einer Zellenanzahl von 3,8 in der Volumen-Einheit auf besondere Fässer geschlaucht. Obergärige Gärungserscheinungen zeigten sich diesmal nicht.

Das gefaßte Bier erwies sich noch nicht völlig frei von wilder Hefe. Von 700 durchmusterten Zellen konnten noch 2 als wilde festgestellt werden. Die gewonnene Bodensatzhefe dagegen war absolut frei von wilder Hefe. In den sowohl von der ungewaschenen wie von der geschlämmten Hefe angefertigten Präparaten, deren Tröpfchen insgesamt rund 2000 Zellen ergaben, waren ausschließlich normale Hefen nachzuweisen.

Aus diesem Versuchsergebnis geht unzweideutig hervor, daß es gelungen ist, auch in der Praxis eine mit wilder Hefe infizierte Kulturhefe, selbst unter Infektionsverhältnissen, wie sie wohl kaum vorkommen dürften, nach zweimaliger Umzüchtung unter Anwendung der in Betracht kommenden Regeln der natürlichen Reinzucht vollkommen von ersterer zu befreien.

Es mögen zum Schlusse noch die bei den Versuchen gemachten Beobachtungen über den Verlauf der Gärung und die Zellenbefunde übersichtlich zusammengestellt werden.

Versuchsanstellung I.

Mischhefe: bestehend aus 85,7 pCt. Betriebshefe der Brauerei und 14,3 pCt. wilder Hefe, Nr. 357 unserer Sammlung, gezüchtet bei Zimmertemperatur im kleinen Lindnerschen Reinzuchtapparate, nach beendeter Gärung abgepreßt und in diesem Zustande mit der Kulturhefe vermischt.

1. Gärführung: 7° — 8,5° — 9,5° — 10° — 8,5° — 7,7° — 7,4° R. Nach

42 Stunden umgepumpt, mit Schwimmer angewärmt, nicht zurückgekühlt. Kellertemperatur 4,5° R.

Dauer der Hauptgärung: 6½ Tage; scheinbare Vergärung: 62,8 pCt.; Bruch: nicht vorhanden.

Anzahl der Hefezellen beim Schlauchen: 2,9 Zellen in V.-F. Zellenverhältnis der Kulturhefe zur wilden im geschlauchten Biere wie 50 : 50.

Zellenverhältnis in der nicht geschlämmten, aber stark von der leichten Hefe abgeschobenen Bodensatzhefe wie 95,7 : 4,3.

Zellenverhältnis in der sechsmal geschlämmten Hefe wie 99,1 : 0,9.

2. Gärführung: 7,5 — 7,8 — 8,1 — 9,1 — 9,5 — 9,0° R. Nicht umgepumpt, nicht angewärmt, nicht zurückgekühlt.

Dauer der Hauptgärung: 5 Tage; scheinbare Vergärung: 55,7 pCt. Bruch: Nicht vorhanden, grün gefaßt.

Anzahl der Hefezellen am Tage vor dem Schlauchen: 13 Zellen in V.-F.

Anzahl der Hefezellen beim Schlauchen: 8 Zellen in V.-F.

Zellenverhältnis in der nicht geschlämmten Bodensatzhefe wie 500 : 0.

Zellenverhältnis in der geschlämmten Hefe wie 1000 : 0.

Versuchsanstellung II (Versuchsbrauerei).

Mischhefe: bestehend aus 75,5 pCt. Betriebshefe, war bereits viermal durchgegangen, und 24,5 pCt. wilder Hefe, Nr. 357; dem Lindnerschen Reinzuchtapparat im Stadium der hohen Kräusen entnommen, hergeführt, die Kulturhefe (3½ Liter) eingerührt, aufgezogen und der Gesamtwürze (8 hl) zugesetzt.

1. Gärführung: 7,0 — 10,0 — 11,0 — 12,0 — 11,0 — 9,5 — 8,8° R. angewärmt. Nach 42 Stunden umgepumpt, zeigt bei 12° R. obergärige Erscheinung. Nicht zurückgekühlt. Kellertemperatur 4,5° R.

Dauer der Hauptgärung: 6 Tage; scheinbare Vergärung: von 14,3 auf 4,5 pCt. = 69,0 pCt. Bruch: Nicht vorhanden.

Anzahl der Hefezellen beim Schlauchen: 8,7 Zellen in V.-F.

Zellenverhältnis der Kulturhefe zur wilden im geschlauchten Biere wie 29,8 : 70,2.

Zellenverhältnis in der nicht geschlämmten Bodensatzhefe wie 96,6 : 3,4.

Zellenverhältnis in der fünfmal geschlämmten Bodensatzhefe wie 99,9 : 0,1.

2. Gärführung: 7,5—7,8—8,0—8,6—10—10,6—9,2—8,1° R. Nicht ungepumpt, nicht angewärmt, nicht zurückgekühlt; normale Gärungserscheinungen.

Dauer der Hauptgärung: 7 Tage.

Scheinbare Vergärung: von 14,3 pCt. auf 4,2 pCt. = 70,0 pCt.

Bruch: leidlich.

Anzahl der Hefezellen beim Schlauchen: 3,8 Zellen in V.-C.

Zellenverhältnis der Kulturhefe zur wilden im geschlauchten Biere wie 99,7 : 0,3.

Zellenverhältnis in der nicht geschlämmten Hefe wie 1000 : 0.

Zellenverhältnis in der geschlämmten Hefe wie 1000 : 0.

Beiträge zur experimentellen Prüfung der Gesetze der natürlichen Reinzucht.

Von A. Munsche.

(Zeitschrift für Spiritusindustrie, 1895.)

Versuche, in einem Gemisch von obergäriger Hefe Rasse II und Brauereibetriebsunterhefe (Nr. 385 unserer Sammlung) erstere von letzterer zu befreien.

Die bezüglichen Versuche, welche unter Delbrücks Leitung ausgeführt wurden, sind dem Kunsthefebereitungsverfahren der Praxis angepaßt, und nachdem es gelungen war, durch bestimmte Methoden den Zeitpunkt mit Sicherheit zu erkennen, wann die untergärige Bierhefe vollständig abgestorben ist, sind die Versuche auch im Brennereibetriebe ausgeführt worden, und dort zeigte es sich, daß die Unterdrückung der Bierhefe noch schneller vor sich geht als bei den Laboratoriumsversuchen.[1])

Laboratoriumsversuche.

Die Versuche wurden in zwei Gruppen angestellt. Einmal sollte konstatiert werden, ob es möglich ist, durch hohen Alkoholgehalt allein bei nur geringer Säuremenge eine Abscheidung der Brauereiunterhefe zu erlangen, im anderen Falle wirkten sowohl hoher Alkoholgehalt als hohe Säuremenge zugleich.

Es kam bei der Versuchsanstellung nun zunächst darauf an, konzentrierte Maischen herzustellen, welche bei nicht zu langer Gärdauer einen hohen Alkoholertrag lieferten. Durch die Arbeiten Delbrücks[2]) ist nachgewiesen, daß gewöhnliche käufliche Preßhefe 28- bis 30prozentige, mit geeigneten Nährmitteln versetzte Rohrzuckerlösungen zu vergären vermag und zwar

1) Vergleiche den Vortrag Delbrücks „Die Ausbildung der Kunsthefebereitung zum natürlichen System der Hefereinzucht", S. 28.

2) Zeitschrift für Spiritusindustrie, 1885, S. 33.

innerhalb der in der Praxis üblichen Gärzeit von 72 Stunden, und daß die vergorene Flüssigkeit über 18 Volumprozent Alkohol enthält.

Es fragte sich nur, ob bei der Vergärung entsprechend konzentrierter Maltose- und dextrinhaltiger Maischen, welche, um nicht allzusehr von der Bereitung der Maischen in der Praxis abzuweichen, aus licht abgedarrtem Malz und käuflicher Kartoffelstärke hergestellt wurden, ein annähernd hoher Alkoholgehalt zu erzielen war. Die aus den angegebenen Materialien hergestellten Maischen wurden noch mit einer bestimmten Menge Rohrzucker versetzt, um eine Konzentration von 28 pCt. Balling zu erreichen.

Fernerhin war es nötig, die Maischen, welche wegen der zu erhaltenden Kraft der Diastase nicht sterilisiert werden konnten, zu jeder besonderen Versuchsreihe von neuem wiederherzustellen, wobei es darauf ankam, um eine in ihrer Zusammensetzung immer gleich konzentrierte Maische zu erhalten, daß die Gewichtsverhältnisse der einzelnen Materialien, die Maischtemperaturen und die Maischzeit genau eingehalten wurden.

Nachdem noch die geeigneten Bedingungen, unter denen eine hohe Vergärung auch bei Verwendung von nicht über 1 pCt. Hefe zu erzielen sei, festgestellt waren, wurde zur Ausführung der einzelnen Versuche geschritten.

Versuchsreihe I.

Konzentration der Maischen: 28,5° Blg.; Säuregehalt: 20 ccm = 0,45 ccm Normal-Natron; Gärtemperaturen: erster Tag 16° R., die übrigen Tage 22° R.; Hefengabe: 1 g pro 100 ccm Maische; Treberzusatz: 5 g von der Maische steril abfiltrierte Treber pro 100 ccm Maische; durchschnittlich erzielter Alkoholgehalt 12—13 Volum-Prozent.

Je 375 g Stärke wurden mit drei Liter aufgekochtem Brunnenwasser angerührt und hierauf unter allmählicher Temperatursteigerung mit 100 g lichtem Darrmalz verflüssigt. Sobald völlige Lösung eingetreten war, wurden weitere 650 g desselben Malzes zugemaischt. Die Temperatur beträgt jetzt 48—50° R. Bei dieser Temperatur wird bis zur vollständigen Verzuckerung — eine Stunde ist hinreichend — gemaischt, sodann wird auf 51—52° erhöht und hier $^1/_2$ Stunde lang gehalten. Jetzt kühlt man schnell ab, filtriert durch einen sterilen Filtrierbeutel (Delbrücks Maischfiltriercylinder) in eine sterile Flasche ab und gibt dem mit einer Milchsäurelösung von bestimmtem Gehalt angesäuerten Filtrate (20 ccm = 0,45 ccm Normal-Natron) 200 g Rohrzucker zu und zwar zum Zwecke der Sterilisation in der Weise, daß man in etwa 100 ccm des Filtrates den Rohrzucker heiß löst und alsdann der Gesamtflüssigkeit zusetzt. Die Gesamtmenge der Maische beträgt gegen zwei Liter, hat eine Konzentration von 28,5° Blg. und einen Säuregehalt von 0,2 pCt. (als Milchsäure berechnet).

Mit je 600 ccm der so bereiteten Maische wurden drei Gärflaschen beschickt, in jede derselben 30 g (5 pCt.) der von der Maische abfiltrierten

Treber gegeben und mit 6 g (1 pCt.) Hefe bei 16° R. angestellt. Die Gärflaschen waren mit Watteverschluß versehen und vor dem Einstellen in das Wasserbad ½ Stunde gelüftet. Von einer kontinuierlichen Luftzufuhr während des ganzen Gärverlaufes war abgesehen worden, da Vorversuche gezeigt hatten, daß keine erheblich bessere Vergärung erzielt werden konnte.

Um den Gärverlauf der Hefemischung, bestehend aus gleichen Teilen Preßhefe Rasse II und Brauereibetriebshefe (Typus Frohberg), mit den Gärungen der beiden Hefen, einzeln für sich angestellt, vergleichen zu können, wurden die Gärversuche in folgender Reihe angeordnet:

a) Gärversuch mit Mischhefe (1 : 1);
b) „ „ Rasse II;
c) „ „ Brauereihefe.

In allen Fällen wurden genau die gleichen Bedingungen eingehalten und der Gärverlauf durch Feststellung des Gewichtsverlustes kontrolliert. Die Hefeführung war folgende:

Nachdem die Gärungen 24 Stunden lang bei 16° R. gehalten waren, wurde die Temperatur auf 22° R. erhöht, und nach Verlauf von weiteren 24 Stunden wurde ein Teil (100 g) der gärenden Maische (reife Hefe) mit 500 ccm neuer, in der oben angegebenen Weise bereiteten Maische angestellt. Der Rest (500 ccm) des gärenden Hefegutes wurde der weiteren Gärung bei 22° R. überlassen und mit der neu angestellten süßen Maische in derselben Weise weiter verfahren wie bei der ersten Hefeführung. Nach wiederum zwei Tagen wurde mit 100 g „reifer Hefe" neue süße Maische angestellt, der restierende Teil gärt weiter.

Die Resultate sind in nachstehender, in sechs Gruppen geteilter Tabelle zusammengestellt. (Seite 76.)

Aus dieser Tabelle ergibt sich folgendes:

Die Hefe- bezw. Gärführung I zeigt, daß das Hefengemisch nach sechstägiger Gärzeit die höchste Alkoholausbeute lieferte: 1,3 Vol.-pCt. mehr, als Rasse II allein unter denselben Verhältnissen zu erzeugen vermochte.

Die Bierhefe blieb in dem Alkoholertrag sowohl hinter der Mischhefe als auch hinter Rasse II zurück. Bemerkenswert ist die Steigerung des Alkoholertrags nach dreimaliger Führung der Bierhefe, sie erzeugt jetzt und bei der nächstfolgenden Vergärung (IV) fast die gleiche Alkoholmenge wie Rasse II, geht aber in der fünften Führung wieder im Ertrag zurück. Die stärkste Angärung war bei Rasse II zu beobachten, dann folgte die Mischhefe und schließlich, zwischen beiden stehend, die Bierhefe. Während die Bierhefe im weiteren Verlauf der Gärung Rasse II nicht einzuholen vermochte, hatte die Mischhefe dieselbe in der Vergärung am vierten Tage erreicht und nach weiteren zwei Tagen überholt.

Die mikroskopische Untersuchung der Hefen ergab, daß die Bierhefe einen sehr körnigen Inhalt und sehr viel bereits abgestorbene Zellen zeigte, während die einzelnen Zellen von Rasse II in überwiegender Anzahl gleich-

Tabelle zu Versuchsreihe I.

Hefe-Art		Kohlensäure-verlust von 600 ccm Maische nach 1 Tagen	2 Tagen	Summe der CO_2 (reife Hefe)	Kohlensäureverlust von 500 ccm der weitervergärenden Maische nach 3 Tagen	4 Tagen	5 Tagen	6 Tagen	Vergorene Maische: Ges. CO_2	Saccharometer-Anzeige	Alkohol Volum-Prozent	Säure: 20 ccm = ccm Normal-Natron	Bemerkungen
		g	g	g	g	g	g	g	g	% Blg.			
Mischhefe	I	4,8	34,4	39,2	10,5	3,7	3,3	3,3	60,0	6,45	12,8	0,80	Angestellt am 22. Nov. 600 ccm Maische von 28,3° Blg. mit 6 g Hefe. Säure: 20 ccm = 0,5 ccm Normal-Natron. Nach 2tägiger Gärzeit wurden 100 g reife Hefe zur Anstellung von 500 ccm Maische (II) verwendet.
Rasse II		6,5	38,0	44,5	7,6	1,8	0,9	1,4	56,2	8,85	11,5	0,85	
Bierhefe		5,5	32,0	37,5	7,7	1,7	0,6	1,2	48,7	11,70	10,0	0,80	
Mischhefe	II	27,9[1]	13,9	41,8	6,4	4,2	2,4	1,7	56,5	7,50	12,9	0,90	Angestellt am 24. Nov. 500 ccm Maische von 28,5° Blg. mit 100 g reifer Hefe (I). Säure: 20 ccm = 0,45 ccm Norm.-Natron.
Rasse II		28,8[1]	15,9	44,7	5,6	2,7	1,4	0,3	54,7	7,80	12,5	0,90	
Bierhefe		23,7[1]	11,9	31,7	5,2	4,3	3,1	2,5	49,8	9,50	11,6	1,00	
Mischhefe	III	5,5	32,5	37,0	7,2	3,1	3,3	1,3	52,2	7,70	12,8	0,80	Angestellt am 26. Nov. 500 ccm Maische von 28,3° Blg. mit 100 g reifer Hefe (II). Säure: 20 ccm = 0,4 ccm Normal-Natron.
Rasse II		7,2	32,3	39,5	7,9	2,3	0,7	1,4	51,8	7,80	12,6	0,80	
Bierhefe		3,4	28,0	31,4	7,2	4,5	3,9	3,0	50,0	8,55	12,2	0,85	

1) Gärtemperatur am ersten Tage bei diesen Versuchen 22° R.

Tabelle zu Versuchsreihe I.

Hefe-Art		Kohlensäureverlust von 600 ccm Maische nach 1 Tagen	Kohlensäureverlust von 600 ccm Maische nach 2 Tagen	Summe der CO_2 (reife Hefe)	Kohlensäureverlust von 500 ccm der weitervergärenden Maische nach 3 Tagen	Kohlensäureverlust von 500 ccm der weitervergärenden Maische nach 4 Tagen	Kohlensäureverlust von 500 ccm der weitervergärenden Maische nach 5 Tagen	Kohlensäureverlust von 500 ccm der weitervergärenden Maische nach 6 Tagen	Vergorene Maische: Ges. CO_2	Vergorene Maische: Saccharometer Anzeige	Vergorene Maische: Alkohol Volum-Prozent	Vergorene Maische: Säure: 20 ccm = ccm Normal-Natron	Bemerkungen
		g	g	g	g	g	g	g	g	° Blg.			
Mischhefe		10,2	30,6	40,8	6,5	3,0	2,2	1,1	53,6	6,95	13,0	0,80	Angestellt am 28. Nov. 500 ccm Maische von 28,3° Blg. mit 100 g reifer Hefe (III). Säure: 20 ccm = 0,45ccm Norm.-Natron.
Rasse II	IV	10,1	30,5	40,6	6,8	2,6	1,4	0,9	52,3	7,15	12,9	0,80	
Bierhefe		6,9	26,2	33,1	7,1	5,1	3,7	2,7	51,7	7,70	12,8	0,90	
Mischhefe		13,2	23,6	36,8	9,6	5,5	1,6	1,2	54,7	6,10	13,2	0,85	Angestellt am 30. Nov. 500 ccm Maische von 28,3° Blg. mit 100 g reifer Hefe (IV). Säure: 20 ccm = 0,45ccm Norm.-Natron.
Rasse II	V	12,1	24,0	36,1	9,4	5,7	1,9	1,1	54,2	6,00	13,3	0,85	
Bierhefe		10,4	18,3	28,7	5,9	1,9	0,6	0,7	37,8	13,20	9,2	0,90	
Mischhefe		10,6	26,7	—	12,4	6,7	3,2		59,6	5,90	13,0	0,85	Angestellt am 2. Dezbr. 500 ccm Maische von 28,3° Blg. mit 100 g reifer Hefe (V). Säure: 20 ccm = 0,45ccm Norm.-Natron.
Rasse II	VI[1])	10,5	26,4	—	12,2	6,1	3,6		58,8	6,00	12,8	0,85	
Bierhefe		8,7	21,1	—	7,4	3,8	4,6		45,6	11,70	10,1	0,90	

1) Keine Abnahme von reifer Hefe mehr. Die Kohlensäurezahlen beziehen sich jetzt durchgängig auf 600 ccm Maische (500 ccm süßer Maische + 100 g reifer Hefe (IV).

mäßig durchſcheinend waren. Den größten Prozentſatz an geſunden und den lebenskräftigſten Zellen aber wies entſchieden die Miſchhefe auf.

Auffallend muß es erſcheinen, daß die Miſchhefe den höchſten Alkoholgehalt erzeugte. Vielleicht iſt unter dem Einfluß der Symbioſe die Alkoholausbeute geſteigert worden.

Für uns iſt die höhere Vergärung der Miſchhefe und der abweichende Gärverlauf gegenüber den beiden einzeln verwendeten Hefen inſofern von Wichtigkeit, weil wir durch die beiden Momente in der Lage ſind, zu konſtatieren, daß, ſo lange bei der Weiterführung der Miſchhefe ſich jene Unterſchiede in der Vergärung gegenüber den beiden Hefen zeigen, beide Heferaſſen ſich noch nebeneinander in Gärwirkung befinden. Sobald in dem Konkurrenzkampfe die eine oder die andere Hefe zu Grunde geht, muß notwendigerweiſe der Gärverlauf ein anderer werden und ſich, je nachdem die Bierhefe oder die andere abgeſtorben iſt, dem Gärverlauf der mit der entſprechenden Hefe allein angeſtellten Gärung anpaſſen.

Wie aus der Tabelle (IV) erſichtlich, zeigte nach viermaliger Führung die mit der Miſchhefe angeſtellte Gärung im Verlauf wie in der Angärung dieſelben Erſcheinungen wie Raſſe II für ſich angeſtellt. Der Geſamt-Kohlenſäureverluſt und die Alkoholausbeute waren auch bei beiden ferneren Weiterführungen völlig gleich.

Es war jetzt noch der endgültige Nachweis zu liefern, daß die Bierhefe aus der Hefenmiſchung vollkommen zu Grunde gegangen iſt.

Methoden zur Feſtſtellung der Abweſenheit von untergäriger Bierhefe in obergäriger Brennereihefe.

Zur Anwendung gelangten zwei Methoden, welche beide die bei dem Gärverlauf der Miſchhefe gemachte Beobachtung beſtätigten.

Die zunächſt angewandte Methode ſtammt von P. Lindner.[1]) Sie gründet ſich darauf, daß ſich untergärige Bierhefe aus einer Flüſſigkeit, in der ſie durch Schütteln verteilt iſt, flockig abſetzt, Preßhefe dagegen nicht. Dieſes Verfahren wurde in folgender Ausführung zum Nachweis dafür, daß die Bierhefe vollſtändig aus dem Hefengemiſch beſeitigt worden war, benutzt:

Nach dem Durchſchütteln wurde dem Gärgefäß eine Durchſchnittsprobe entnommen, mittels der Zählkammer die Anzahl der Zellen in der Volumeneinheit feſtgeſtellt und nun eine Verdünnung mit ſteriler Bierwürze in der Weiſe hergeſtellt, daß ſich in einem Tropfen nicht mehr als eine Zellkolonie entwickeln kann. Dieſe „Tropfenkultur" führt man am beſten in ſterilen Petriſchalen durch, wobei die Tropfen mittels einer ſterilen, kleinen Pipette ſowohl auf der unteren wie oberen Seite des Schalenpaares getupft werden. Um ein Eintrocknen der Würzetropfen zu verhüten, werden die

1) Bonner Brennerei-Zeitung, 1891, S. 610.

beschickten Schalen in einer feuchten Kammer gehalten. Bei ruhiger Lage beobachtet man bereits nach 2 bis 3 Tagen die sich entwickelnden Zellkolonien als weiße zusammenhängende Flecken. Haben dieselben eine hinreichende Größe erreicht, so werden sie mit einem ausgeglühten kurzen Platindraht einzeln verrührt. Das Verhältnis der sich flockig absetzenden Hefen zu den anderen ergibt das Verhältnis von Bierhefe zu obergäriger Brennereihefe.

Die zweite Methode, welche zum Nachweis von Unterhefe in obergäriger Preßhefe dient, ist von Bau und in der Zeitschrift für Spiritusindustrie, 1894, Seite 1535, ausführlich beschrieben. Dieselbe eignet sich ausgezeichnet für unsere Zwecke, gibt sehr scharfe Resultate und ist höchst einfach in ihrer Ausführung.

Das Verfahren beruht auf dem verschiedenen Verhalten der ober- und untergärigen Hefe gegenüber der Vergärung von Melitriose (Raffinose). (Es war Loiseau, welcher bereits 1889[2]) mit Bestimmtheit ausgesprochen hatte, daß Melitriose von Unterhefe vollständig, von Oberhefe nur zu einem Drittel vergoren wird. Bau, welcher durch seine eigenen Versuche die Angaben Loiseaus völlig bestätigen konnte, arbeitete nun auf das eben gekennzeichnete Verhalten beider Hefen die Methode des Nachweises von Unterhefe in obergäriger Preßhefe weiter aus.

Man verwendet am besten eine 2—3prozentige, mit Hefewasser sterilisierte Melitrioselösung, impft mit einer guten Durchschnittsprobe der entnommenen Hefe und läßt bei 25° C. vollständig vergären. Sobald jede Gärungserscheinung erloschen ist, in unserem Falle jedenfalls nach zehn Tagen, wird blank abfiltriert und das Filtrat mit Fehlingscher Lösung geprüft. Erfolgt Kupferreduktion, so enthält die zu untersuchende Hefeprobe keine untergärige Hefe mehr, selbst nicht in Spuren.

Hinsichtlich der Brauchbarkeit der Methoden ist noch zu bemerken, daß nicht nur die Mischhefe, sondern auch die mehrmals durchgegangene Hefe Rasse II und die Brauereihefe derselben Prüfung unterzogen wurden, wobei sich zeigte, daß tatsächlich die angewandten Methoden mit Sicherheit richtige Schlüsse zulassen. Ferner wurden, da ja die Möglichkeit vorliegen konnte, daß die Bierhefe nur in ihrer Entwickelung bei der Konkurrenz gehemmt, nicht aber getötet worden sei, und daß sie bei günstiger Gelegenheit wieder gärkräftig werden könnte, auch einzelne den Gärflaschen entnommene Hefeproben teils in steriler Bierwürze und teils in mit den nötigen Nährstoffen versehenen Rohrzuckerlösungen aufgefrischt, bevor sie zur Prüfung benutzt wurden. Die Versuche mit den aufgefrischten Hefen ergaben keinen Unterschied gegenüber der nicht aufgefrischten.

Bei Anwendung der Bauschen Gärprobe ist weiter noch zu erwähnen, daß die zu untersuchende Hefe, ebenso wie das als Nährflüssigkeit dienende

2) Siehe Bau, „Der Sammelbegriff Saccharomyces cerevisiae" (Wochenschrift für Brauerei 1891, S 1368).

Hefewasser, absolut frei von Kupfer reduzierenden Substanzen sein müssen, da im entgegengesetzten Falle das Resultat unsicher bezw. unrichtig werden kann.

Nachdem im allgemeinen die beiden zur Anwendung gelangten Methoden beschrieben sind, kehren wir zu der Versuchsreihe I wieder zurück.

Nach der Lindnerschen Tropfenmethode wurde festgestellt, daß unter den mit der Mischhefe nach der sechsten Gärführung gemachten 200 Tropfen 176 davon angegangen waren. Beim Verrühren dieser Zellkolonien zeigte nicht eine einzige ein flockiges Absetzen. Kontrollversuche mit der ebenfalls sechsmal durchgegangenen Bierhefe ließen ganz deutlich ein flockiges Absetzen in allen Fällen erkennen, während Rasse II unter denselben Verhältnissen, für sich präpariert, das gleiche staubige Aussehen beim Verrühren aufwies, wie die einzelnen Kolonien der Mischhefe.

Hierdurch ist nachgewiesen, daß die Bierhefe in der Konkurrenz beider Heferassen unter den der obergärigen Brennereihefe angepaßten Kulturbedingungen vollkommen vernichtet worden ist, trotzdem die Versuchsbedingungen keineswegs so waren, daß die Bierhefe zu Grunde gehen mußte, denn unter den gleichen Umständen für sich geführt, ist sie wohl geschwächt und degeneriert, aber keineswegs, wie die Versuche lehren, abgestorben.

Die Bausche Gärmethode mittels Melitriose ergab für Versuchsreihe I folgende Resultate:

Nach 10tägiger Gärung — es wurden etwa 10 ccm einer $2^1/_2$prozentigen mit Hefewasser versetzten sterilen Melitrioselösung verwendet — zeigte

a) die mit der Mischhefe nach der vierten und sechsten Gärführung vergorene Flüssigkeit mit Fehlingscher Lösung: starke Reduktion,

b) die mit Rasse II nach der vierten und sechsten Gärführung vergorene Flüssigkeit mit Fehlingscher Lösung: starke Reduktion,

c) die mit der Bierhefe nach der vierten und sechsten Gärführung vergorene Flüssigkeit mit Fehlingscher Lösung: nicht die Spur einer Reduktion.

Es ist somit auch durch die Bausche Gärmethode mittels Melitriose der Beweis erbracht worden, daß die Bierhefe in der Konkurrenz beider Heferassen unter den angeführten Kulturbedingungen bereits nach viermaliger Führung beseitigt worden ist, und damit ist auch die bei dem Gärverlauf gemachte Beobachtung bestätigt, daß, sobald die Mischhefe die gleichen Kohlensäurezahlen und die nämliche Alkoholausbeute lieferte wie Rasse II, für sich angestellt, die Brauereiunterhefe total zu Grunde gegangen ist.

Versuchsreihe II.

Während bei der Versuchsreihe I hauptsächlich der hohe Alkoholgehalt in Verbindung mit der höheren Gärtemperatur die Faktoren waren, welche für die Bierhefe in der Konkurrenz mit der obergärigen Hefe Rasse II nicht günstig sind, kam bei den nun folgenden Versuchen noch eine dritte für die untergärige Hefe ungünstige Kulturbedingung hinzu, nämlich ein hoher Säuregehalt.

Bei der Herstellung der Maischen für die Kunsthefe wurde genau so verfahren wie früher, nur der Säuregehalt wurde auf 0,77 pCt. (als Milchsäure) erhöht, so daß 20 ccm der Maische 1,70 Normal-Natron entsprechen.

Die Hefeführung erfuhr in der Weise eine Abänderung, daß man die „Hefe" nach 24stündiger Gärzeit, und zwar, nachdem sie 6 Stunden bei 16° R. und 18 Stunden bei 22° R. gehalten war, zum Anstellen benutzte. Von je 600 ccm „reifer Hefe" wurden je 200 g zur Bereitung einer neuen Hefe verwendet und je 100 g mit 400 ccm einer Rohrzuckerlösung[1]), enthaltend 120 g Rohrzucker, 4 g Asparagin und 12 ccm einer Salzlösung, die ihrerseits im Liter 50 g phosphorsaures Kali und 17 g schwefelsaure Magnesia enthielt, angestellt. Den Rest des gärenden Hefegutes überließ man der weiteren Gärung bei 22° R. Die in der angegebenen Weise bereitete Kunsthefe wurde fünfmal weitergeführt und diente viermal zum Anstellen von Rohrzuckerlösungen, welch letztere einen Alkoholgehalt bis zu 16 Volumenprozent bei der Vergärung lieferten. Angestellt wurde mit 2 pCt. Hefe, und zwar wurden die Gärungen ebenso wie in der Versuchsreihe I mit der Mischhefe, bestehend aus gleichen Teilen Rasse II und Brauerei-unterhefe, als auch mit den einzelnen Hefen geführt.

Versuchsergebnisse.

Nach den bereits gewonnenen Resultaten der Versuchsreihe I war zu erwarten, daß jetzt, nachdem die Kulturbedingungen für die Bierhefe noch ungünstiger gestaltet worden waren, die Unterdrückung derselben schneller vor sich gehe. Tatsächlich war bereits aus dem Gärverlauf zu ersehen, daß die Bierhefe nach dreimaliger Führung vollständig verschwunden sein mußte.

Die nachfolgenden Tabellen A^1 bis A^5, welche der Reihe nach die Anzahl der Hefenführungen repräsentieren, geben Auskunft

1. über den Kohlensäureverlust nach 24 Stunden (Angärung, bezw. reife Hefe);
2. über die nach 6 Tagen erzielte Vergärung (Saccharometeranzeige, Alkoholmenge);

1) M. Delbrück: Die Vergärung von Dickmaischen. Zeitschrift für Spiritusindustrie, 1895, S. 33.

Tabelle A^1 bis A^5 (Versuchsreihe II).

Vergärung von Maischen wie bei Versuchsreihe I; durchschnittliche Konzentration: 28,5° Ball.; Säuregehalt: 20 ccm = 1,0 Normal-Natron; Gärtemperaturen: die ersten 6 Stunden 16° R., weitere 18 Stunden 22° R. (Hefe reif), die übrigen Tage 22° R.: Treberzusatz: 5 g pro 100 ccm Maische; Hefengabe: 2 g Anstellhefe pro 100 ccm Maische; höchster durchschnittlich erzielter Alkoholgehalt: 11—12 Vol.-pCt.

Hefeart		Kohlensäureverlust von 600 ccm Maische nach 24 Stunden (reife Hefe) g	Vergorene Maische nach 6tägiger Gärung: Saccharometer-Anzeige	Alkohol Vol.-pCt.	Säure 20 ccm = ccm Normal-Natron	Gärprobe mittels Melitriose Reduktion	
Mischhefe . .		33,6	7,50	12,20	1,90	keine	Angestellt am 8. Januar. 600 ccm Maische von 28,5° Ball. mit 12 g Hefe. Säure: 20 ccm = 1,70 ccm Normal-Natron. Nach 24stündiger Gärzeit wurden 200 g reifer Hefe zur Anstellung von 400 ccm Maische (A^2) verwendet und 100 g mit 400 ccm einer Rohrzuckerlösung angestellt (Tabelle B).
Rasse II . .	A^1	36,6	11,90	9,90	1,90	starke	
Bierhefe . .		29,6	12,45	9,60	1,85	keine	
Mischhefe . .		32,0	9,40	11,40	1,90	keine	Angestellt am 9. Januar. 440 ccm Maische von 28,7° Ball. mit 200 g Hefe (A^1). Säure: 20 ccm = 1,65 ccm Normal-Natron.
Rasse II . .	A^2	33,3	9,70	11,00	1,90	starke	
Bierhefe . .		25,9	12,20	9,80	1,90	keine	
Mischhefe . .		31,4	9,85	11,00	1,85	starke	Angestellt am 10. Januar. 400 ccm Maische von 28,8° Ball. mit 200 g Hefe (A^2). Säure: 20 ccm = 1,80 ccm Normal-Natron.
Rasse II . .	A^3	32,7	9,80	11,25	1,85	"	
Bierhefe . .		21,8	12,15	10,00	1,85	keine	
Mischhefe . .		33,7	9,80	11,10	1,80	starke	Angestellt am 11. Januar. 400 ccm Maische von 28,8° Ball. mit 200 g Hefe (A^3). Säure: 20 ccm = 1,80 ccm Normal-Natron.
Rasse II . .	A^4	33,5	9,60	11,35	1,85	"	
Bierhefe . .		24,2	11,90	10,15	1,80	keine	
Mischhefe . .		32,3	9,4	11,20	1,75	starke	Angestellt am 12. Januar. 400 ccm Maische von 28,6° Ball. mit 200 g Hefe (A^4). Säure: 20 ccm = 1,70 ccm Normal-Natron.
Rasse II . .	A^5	32,9	9,3	11,30	1,75	"	
Bierhefe . .		23,8	10,2	10,80	1,80	keine	

Tabelle B^1 bis B^4 (Versuchsreihe II).

Rohrzuckerlösungen von 28,7° Ball. wurden angestellt mit 100 g reifer Hefe von A^1, A^2, A^3, A^4. Gärtemperaturen: die ersten 6 Stunden 16° R., die übrigen Stunden 22° R.; Gärzeit: 6 Tage; Zusatz von 2 g Roggenkleie pro 100 ccm Zuckerlösung; höchster durchschnittlich erzielter Alkoholgehalt: 15—16 Volum-pCt.

Hefeart		Kohlensäureverlust von 400 ccm Rohrzucker und 100 g reifer Hefe nach 24 Stunden (Angärung)	Vergorene Zuckerlösung nach 6tägiger Gärzeit: Saccharometer-Anzeige	Alkohol Vol.-pCt.	Säure 20 ccm = ccm Normal-Natron	Gärprobe mittels Melitriose Reduktion	
Mischhefe . .		14,2	2,0	15,7	0,8	keine	Angestellt am 9. Januar.
Rasse II . .	B^1	10,0	3,0	15,1	0,8	starke	400 ccm Rohrzuckerlösung mit 100 g reifer
Bierhefe . .		14,7	5,8	13,4	0,8	keine	Hefe (A^1).
Mischhefe . .		10,2	2,15	15,7	0,8	starke	Angestellt am 10. Januar.
Rasse II . .	B^2	10,4	1,20	16,2	0,8	starke	400 ccm Rohrzuckerlösung mit 100 g reifer
Bierhefe . .		15,2	6,15	13,4	0,8	keine	Hefe (A^2).
Mischhefe . .		11,3	1,5	16,0	0,8	starke	Angestellt am 11. Januar.
Rasse II . .	B^3	11,3	1,1	16,3	0,8	starke	400 ccm Rohrzuckerlösung mit 100 g reifer
Bierhefe . .		15,8	6,5	13,2	0,8	keine	Hefe (A^3).
Mischhefe . .		12,5	2,0	15,7	0,8	starke	Angestellt am 12. Januar.
Rasse II . .	B^4	13,0	2,3	15,4	0,8	starke	400 ccm Rohrzuckerlösung mit 100 g reifer
Bierhefe . .		15,8	6,0	13,4	0,75	keine	Hefe (A^4).

3. über die Säuremenge in der vergorenen Maische;
4. über das Ergebnis der Vergärung von Melitriose, ob die vergorene Melitrioselösung reduziert oder nicht.

Bezüglich der Resultate dieser Tabelle gilt im allgemeinen das bereits bei der Versuchsreihe I Gesagte. Die Alkoholausbeute bei der ersten Gärung (A^1) ist hier noch im höheren Maße zu Gunsten der Mischhefe ausgefallen. Rasse II blieb um 2,3 Volumprozent nach 6tägiger Gärung hinter der Mischhefe zurück. Bei der zweiten Gärführung (A^2) geht letztere bereits zurück, ist aber doch noch um 0,4 pCt. im Alkoholgehalt voraus. Nach dreimaligem Durchgehen ist der Unterschied in der Vergärung ausgeglichen, auch bei den weiteren Vergärungen leisten beide Hefen dieselben Alkoholerträge und weisen gleiche Gärungserscheinungen auf. Ganz im Einklang mit diesen Beobachtungen ergab die Gärprobe mittels Melitriose die vollständige Abwesenheit der Brauereiunterhefe in dem Hefengemisch nach dreimaliger Führung.

Die durchgehend geringeren Alkoholerträge gegenüber der Versuchsreihe I sind darauf zurückzuführen, daß durch den höheren Säuregehalt die Diastase in ihrer nachwirkenden Kraft Einbuße erlitten hat, infolgedessen konnte keine so vollständige Invertierung des Dextrins während der Gärung stattfinden.

Auffällig ist hier, daß Rasse II in allen Fällen nach 24 Stunden die geringste Vergärung zeigte, gerade das Gegenteil von dem, was bei den Gärversuchen mit den Maischen beobachtet wurde. Die Bierhefe war innerhalb der ersten 24 Stunden am gärtüchtigsten, ihr ebenbürtig erwies sich die einmal durchgegangene Mischhefe (A^1), (Tabelle B^1).

Aber bereits in der zweiten Gärführung (B^2) war die Mischhefe in der Angärung gegenüber der Bierhefe zurückgegangen, sie ergab jetzt den gleichen Kohlensäureverlust nach Verlauf von 24 Stunden wie Rasse II. Während bei der ersten Vergärung der Zuckerlösung die Mischhefe noch imstande war, Melitriose vollständig zu vergären, war dies bei der nächstfolgenden Gärung (B^2) nicht mehr der Fall. Hieraus geht hervor, daß die Mischhefe bei vorausgegangener zweimaliger Führung in saurem Hefegute nach einer weiteren sechstägigen Führung in konzentrierter Zuckerlösung keine lebensfähigen Zellen der untergärigen Bierhefe mehr enthalten kann. Dieselben müssen vollständig abgestorben sein.

Auf Grund der Ergebnisse vorstehender Versuche ist man berechtigt, den Schluß zu ziehen, daß das Kunsthefebereitungsverfahren der Brennerei sich in der Tat zu einem System der natürlichen Reinzucht entwickeln läßt. Das System muß darin bestehen, durch passenden Säuregehalt, hohe Vergärung, hohe Gärtemperaturen u. s. w. aus einem Hefegemisch diejenigen Heferassen auszuschließen, welche das angewandte Klima nicht vertragen können, so daß nur diejenige Heferasse, die sich am widerstandsfähigsten erweist, als Siegerin hervorgeht.

Experimentelle Beiträge zur „natürlichen Hefereinzucht".

Von Sigbert Auerbach.

(Wochenschrift für Brauerei. 1895.)

Mit der Aufgabe, Konkurrenz-Versuche zwischen Kahmhefe und Kulturhefe anzustellen, wurde ich von Herrn Professor Delbrück betraut, die Untersuchungen führte ich unter Leitung von Herrn Dr. F. Schönfeld aus.

Als Versuchsmaterial dienten untergärige Brauereihefe (Frohberghefe) und eine von Lindner aus Bier isolierte, Dextrose vergärende Kahmhefe (Nr. 170 unserer Sammlung). Die Gärungen wurden in sterilen, mit Wattebausch verschlossenen Gärflaschen von ca. 1 Liter Inhalt ausgeführt; zur Verwendung kamen jedesmal 300 ccm gehopfter Würze. Die Hefen wurden erst im kleinen, dann im großen Pasteurkolben gezüchtet, filtriert und mit sterilem Filtrierpapier gepreßt.

Zur Feststellung des Zellenverhältnisses diente die Lindnersche Tröpfchenmethode, die Verdünnung wurde jedoch — wie es von Schönfeld vorgeschlagen und sodann von Munsche bei seinen Arbeiten angewendet war — mit einem Gemisch von Würze und Würzegelatine hergestellt.

I. Schichtenbildung. Temperatur 10° R.

Aussaat: 2 g Frohberg + 1 g Kahm
Zellenverhältnis: Frohberg 28,9 pCt. Kahm 71,1 pCt.

Nach sechsmaligem Durchführen des Bodensatzes (während der letzten drei male war derselbe mit sterilem Wasser aufgeschlämmt) ließ sich unter mehr als 400 gezählten Kolonien kein Kahm mehr nachweisen.

Die von der ersten Gärung herrührenden Kräusen enthielten nach siebenmaligem Führen nur noch Kahmhefe.

II. Konkurrenzversuche.

A. Ohne Lüftung.

1. Kleine Aussaatmengen.

Temperatur 10° R.

Aussaat: 1 Platinöse Frohberg + 1 Platinöse Kahm
Zellenverhältnis: Frohberg 18,2 pCt.; Kahm 81,8 pCt.
Nach 12 Tagen: „ 62 „ „ 38 „

Temperatur 2—3° R.

Aussaat: 1 Platinöse Frohberg + 1 Platinöse Kahm
Zellenverhältnis: Frohberg 25,9 pCt.; Kahm 74,1 pCt.
Nach 14 Tagen: „ 0,38 „ „ 99,62 „

Bei mittleren Temperaturen und geringen Aussaatmengen nimmt man eine starke Vermehrung der normalen Hefe wahr, während bei kalten Temperaturen die Kahmhefe ins Übergewicht kommt.

2. Größere Aussaatmengen.

Temperatur 10° R.

Aussaat: 2 g Frohberg + 1 g Kahm
Zellenverhältnis: Frohberg 19 pCt.; Kahm 81 pCt.
Nach 9 Tagen: „ 44,4 „ „ 55,6 „

Temperatur 2—3° R.

Aussaat: 1,2 g Frohberg + 0,3 g Kahm
Zellenverhältnis: Frohberg 38,8 pCt.; Kahm 61,2 pCt.
Nach 18 Tagen: „ 35,5 „ „ 61,5 „

Wie bei geringen Aussaatquanten, bewirken mittlere Temperaturen ein starkes Vorgehen der Frohberghefe vor der Kahmhefe; kalte Temperaturen dagegen zeigen einen Gleichgewichtszustand.

B. Mit Lüftung.

Temperatur 22—23° R.

Aussaat: 1,2 g Frohberg + 0,3 g Kahm
Zellenverhältnis: Frohberg 33,2 pCt.; Kahm 66,8 pCt.
Nach 3 Tagen: „ 98,1 „ „ 1,9 „

Temperatur 2—3° R.

Aussaat: 1,2 g Frohberg und 0,3 g Kahm
Zellenverhältnis: Frohberg 41,6 pCt.; Kahm 58,1 pCt.
Nach 13 Tagen: „ 46,7 „ „ 53,3 „

Gelüftet wurde täglich 3 Stunden. Die Lüftung war jedoch von keinem Einfluß auf die Vermehrung der Kahmhefe; letztere wurde vielmehr bei warmen Temperaturen bis auf 1,9 pCt. zurückgedrängt. Zwar zeigte sich 8 Tage nach dem Anstellen eine starke Haut auf der Flüssigkeit; da aber bei so hohen Temperaturen die Hefenvermehrung bei der normalen Hefe nach dreitägiger Gärung vorüber ist, so können die sich nunmehr noch in dem Bier befindlichen, lebenden Kahm-

zellen für eine Konkurrenz nicht mehr in Betracht kommen; dieselben ziehen sich an die Oberfläche der Flüssigkeit und können sich nunmehr auf Kosten des während der Gärung gebildeten Alkohols weiter vermehren.

Bei kalten Temperaturen haben wir ein ganz schwaches Vorgehen der normalen Hefe zu vermerken.

C. Bei Verwendung von Nährsalzen.

Temperatur 22—23° R.

Zur Würze wurden 0,6 g Diammoniumphosphat zugesetzt.

Aussaat: 1,2 g Frohberg + 0,3 g Kahm
Zellenverhältnis: Frohberg 18,7 pCt.; Kahm 81,3 pCt.
Nach 4 Tagen: „ 91,5 „ „ 8,5 „

Temperatur 2—3° R.

Die Würze wurde mit 1 g Asparagin versetzt.

Aussaat: 1,2 g Frohberg + 0,3 g Kahm
Zellenverhältnis: Frohberg 35,2 pCt.; Kahm 64,8 pCt.
Nach 13 Tagen: „ 45,3 „ „ 54,7 „

Wie Beijerinck[1]) angibt, vermag der Kahm am besten zu seiner Ernährung Ammonsalze zu verwenden, während für die normale Hefe Amide und Peptone vorzügliche Nährmittel darstellen. Es fragte sich nun, ob vielleicht bei warmen Temperaturen unter Zugabe eines solchen Ammonsalzes für die Kahmhefe sich günstigere Bedingungen schaffen ließen und ob andererseits bei kalten Temperaturen ein Zusatz von Asparagin z. B. die normale Hefe ins Übergewicht bringen würde. Die angestellten Versuche ergaben, daß bei Temperaturen von 22—23° R. ein Zusatz von Ammonsalzen zur Würze für die Kahmhefe absolut bedeutungslos ist. Die Temperaturen von 2—3° zeigen ein geringes Aufsteigen der normalen Hefe.

D. Bei Verwendung von Milchsäure.

Verwendet wurde eine käufliche Milchsäure, von welcher mit der Pipette bestimmte Mengen zur Würze zugesetzt wurden, nachdem der Gehalt an Säure in dem käuflichen Produkt bestimmt war.

Temperatur bei den folgenden Versuchen stets 22—23° R.

1. 0,6 pCt. Säure.

Aussaat: 1 g Frohberg + 0,5 g Kahm
Zellenverhältnis: Frohberg 26,6 pCt.; Kahm 73,4 pCt.
Nach 2 Tagen: „ 74,0 „ „ 26 „
Im ganzen nach 5 Tagen: Frohberg 36,6 pCt.; Kahm 63,4 pCt.

Vermehrung von Kahm und Frohberg gesondert für sich (festgestellt durch Zählkammer).

Innerhalb 8 Tagen:
Frohberg von 2,1 auf 30 in der Zählkammer-Einheit (0,05 mm)
Kahm „ 1,5 „ 37 „ „ „

1) Centralblatt für Bakteriologie 1892, XI. Band, S. 3 u. 4.

2. 1,7 pCt. Säure.

Aussaat: 1,2 g Frohberg + 0,3 g Rahm
Zellenverhältnis: Frohberg 23,6 pCt.; Rahm 76,4 pCt.
Nach 2 Tagen: „ 52,2 „ „ 47,8 „
Im ganzen nach 10 Tagen: Frohberg 3,9 pCt.; Rahm 96,1 pCt.

Vermehrung von Rahm und Frohberg gesondert für sich:

Innerhalb 3 Tagen: Frohberg von 0,9 auf 3,77 in der Zählkammer-Einheit
Innerhalb 9 „ Rahm „ 1,2 „ 15 „ „ „

Trotz der bedeutend geringeren Beeinflussung durch hohen Säuregehalt unterliegt die Brauerei-Rahmhefe im Anfang der Gärung der gegen Säure viel empfindlicheren normalen Hefe, schlägt sie aber fast völlig nach 10 Tagen. In unmittelbarer Konkurrenz bei mittleren und hohen Temperaturen, selbst unter günstigsten Lebens- und Schutzbedingungen ist die Rahmhefe der normalen Hefe nicht gewachsen; sie bevorzugt kalte Temperaturen; hier gewinnt sie mit Leichtigkeit die Überhand. Man darf sie somit den „Kalthefen" zurechnen.

Rahmhefe und Brennereihefe.

Da erheblich verschiedene Säuremengen bei der Vergärung mit untergärigen Hefen viel weniger in Betracht kommen, als im Brennereigewerbe, so lag es nahe, zu untersuchen, wie sich eine Brennereihefe in der Konkurrenz mit Rahm bei verschiedenen Säuremengen verhalten würde. Als Hefematerial dienten Brennereihefe Rasse II und eine von Lindner aus Preßhefe isolierte Rahmhefe (Nr. 267 der Sammlung). Die Versuchsanstellung blieb dieselbe wie früher; nur wurden die Hefen in ungehopfter Würze gezüchtet und auch die Gärungen in ungehopfter Würze geführt.

1. 0,6 pCt. Säure.

Aussaat: 1,2 g Rasse II + 0,3 g Rahm
Zellenverhältnis: Rasse II 75,1 pCt.; Rahm 24,9 pCt.
Nach 3 Tagen: „ II 83,2 „ „ 16,8 „

Vermehrung von Rasse II und Rahm für sich allein.

Innerhalb 3 Tagen: Rasse II von 2 auf 35,5 in der Zählkammer-Einheit,
„ 18 „ Rahm „ 1,3 „ 65 (weiter wurde die Zählung nicht fortgeführt).

2. 1,8 pCt. Säure.

Aussaat: 1,2 g Rasse II + 0,3 g Rahm
Zellenverhältnis: Rasse II 55,6 pCt.; Rahm 44,1 pCt.
Nach 4 Tagen: „ II 3 „ „ 97 „

Vermehrung von Rasse II und Rahm für sich allein.

Innerhalb 3 Tagen: Rasse II von 2,6 auf 11 in der Zählkammer-Einheit
„ 14 „ Rahm „ 1,7 „ 90,5 „ „ „

Bei hohen Säuremengen sehen wir eine fast vollständige Unterdrückung von Rasse II. Nach zweitägiger Gärung war die Flüssigkeit mit einer stark blasigen Haut bedeckt, eine Erscheinung, die beim Brauereikahm nach so kurzer Gärzeit nicht eintrat. Diese Brennerei-Rahmhefe im

Gegensatz zu der Brauerei-Kahmhefe als eine „Warmhefe“[1]) zu bezeichnen, dürfte vielleicht, obgleich noch eingehendere Versuche den Beweis dafür erbringen müßten, im Hinblick auf den letzt angeführten Versuch nicht als voreilig anzusehen sein.

Bei geringeren Säuremengen tritt ein Vorgehen von Rasse II ein; letztere zeigt auch, für sich allein betrachtet, eine stärkere Vermehrung als bei hohen Säuremengen.[2])

Kann man nun mit Kahmhefe infizierte Brennereihefe von erster befreien? Bei dieser Frage kommt in Betracht, daß die normale Hefe nicht so hohen Säuregehalten gewachsen ist wie die Kahmhefe; man wird also mit geringen Säuremengen zu arbeiten haben. Außerdem aber ist die Brennereihefe an stärkere Alkoholmengen gewöhnt als Kahmhefe; infolgedessen wird die normale Hefe ins Übergewicht kommen, wenn ihr Gelegenheit geboten ist, bei geringem Säuregehalt möglichst viel Alkohol zu bilden.

Zu diesem Zwecke wurde durch Eindampfen eine 22,5 pCt. Blg. spindelnde, ungehopfte Würze hergestellt.

Die Säuremengen betrugen 0,4 pCt.

Aussaat: 1,2 g Rasse II + 0,3 g Kahm
Zellenverhältnis: Rasse II 84,9 pCt.; Kahm 15,1 pCt.

Nach zwei Tagen war die Würze auf 6,8 pCt. Blg. vergoren. Von der gärenden Flüssigkeit wurde $^1/_3$ zu neuen 300 ccm Würze gegeben und das Zellenverhältnis sofort bestimmt.

Es ergab sich:

Rasse II 99,7 pCt.; Kahm 0,3 pCt.

Nach weiteren zwei Tagen wurde, wie eben angegeben, verfahren. Bei der Feststellung des Zellenverhältnisses ließ sich Kahmhefe nicht mehr nachweisen. Eine Hautbildung war auch nach 4 Wochen nicht eingetreten.

---

1) Delbrück: „Die natürliche Reinzucht in der Praxis“. S. 34.
2) Delbrück: „Die alte gute Preßhefe“. Zeitschrift für Spiritusindustrie 1895, Nr. 43.

Die Dextrin vergärende Hefe Schizosaccharomyces Pombe und ihre eventuelle Einführung in die Praxis.

Von Dr. F. Rothenbach.

(Aus der gleichnamigen Veröffentlichung in der Zeitschrift für Spiritusindustrie, 1896.)

Der durch die Pombe erzielte Endvergärungsgrad ist höher als bei Anwendung aller anderen bisher bekannten Gärungserreger.

Die Pombe vergärt Dextrin.

Mit dem Studium der gärungsphysiologischen Eigenschaften der Hefe Pombe, welche nach Untersuchungen Lindners eine Spalthefe ist, da sie sich nicht durch Sprossung sondern durch Spaltung vermehrt, und welche zuerst von Saare in dem aus Negerhirse hergestellten Negerbier aus Ostafrika neben wilden Hefen, Bakterien und Schimmelpilzen beobachtet wurde, wurde ich von Professor Delbrück betraut. Die hierauf bezüglich angestellten Versuche erstreckten sich zunächst auf die Behandlung niedrigprozentiger Würzen und Maischen mit der Spalthefe. Später wurden Malz- resp. Kartoffelmaischen, teilweise stark konzentriert, mit der Pombe vergoren, um festzustellen, ob sich die Afrikanerin eventuell zur Einführung in die Praxis eignen würde.

Derjenige Teil der vorliegenden Arbeit, welcher lediglich bezweckte, nachzuweisen, daß die Spalthefe alle bisher gekannten Hefen in ihrer Gärungsintensität übertrifft, wurde vorwiegend mit gehopften und ungehopften Brauereibetriebswürzen, also diastasefreien Zucker- und Dextringemischen zur Ausführung gebracht. Von den bezüglichen Versuchen sind einige in untenstehender Tabelle zusammengestellt.

Als Vergleichsobjekte, mit denen die Pombe in Konkurrenz zu treten hatte, dienten untergärige Brauereihefe Frohberg und die obergärige, sehr starke Brennereihefe Rasse II.

Tabelle I.

Vergleichende Gärversuche von Pombe und Rasse II bei Anwendung gekochter Brauerei-Betriebswürze.

Art der Hefe	Temperatur in Réaumur-graden	Gärdauer		Saccharometeranzeige vor der Gärung	Saccharometeranzeige nach der Gärung	Scheinbarer Vergärungs-grad	Säurezunahme während d. Gärung, ausgedrückt in ccm Normalnatron pro 20 ccm Würze
1. Pombe	—	5 Tage	bis zu beendeter Gärung	24,45	2,2	91,0	0,6
2. Rasse II (Versandhefe) .	20—22°	4 Tage		—	3,5	85,7	0,5
3. Frohberg (Reinkultur) .	—	4 Tage		—	4,0	83,6	0,2

Wie aus den vorstehenden Zahlen ersichtlich ist, hat die Pombe die Würzen beträchtlich weiter vergoren als die drei anderen, mit ihr im Vergleich gestellten Hefen.

Um den direkten Beweis zu führen, daß die Pombehefe Dextrin zu vergären imstande ist, wurde zunächst eine ursprünglich ca. 20prozentige gekochte Brauerei-Vorderwürze, welche mit Brennereihefe Rasse II bei 20—22° R. bis 3,8 pCt. Balling vergoren war, von neuem mit Rasse II, ferner mit Hefe Frohberg und Pombe angestellt. In den beiden ersteren Fällen fand keine Kohlensäureentwickelung und Gewichtsabnahme statt.

Die Pombe hingegen rief in dem Biere von 3,8 pCt. Balling noch eine deutlich sichtbare Gärung hervor; es trat eine Abnahme bis zur Saccharometeranzeige von 2,25 pCt. ein.

Ein zweiter direkter Beweis wird durch den folgenden Versuch erbracht.

Eine 19prozentige Dextrinlösung wurde mit 3 pCt. Pombehefe bei 22—24° R. unter Zusatz von 0,5 g Asparagin und 1 ccm Hayduckscher Nährsalzlösung zur Gärung angestellt.

Von dieser Lösung wurden 25 ccm, enthaltend ca. 5 g Dextrin[1]), mit Pombehefe angestellt. Die Gewichtsabnahme während der Gärung betrug 1,41 g Kohlensäure.

Vergoren wurde demnach ungefähr die Hälfte des angewandten Dextrins.

Mit Hilfe der gärungsphysiologischen Methode gelangen Munsche und wir zu dem Resultate, daß zwei, oder genauer ausgedrückt, mindestens

1) Genau 5,13 g Dextrin unter der Bedingung, daß das spezifische Gewicht des Achroodextrins gleich dem des Rohrzuckers ist.

zwei Achroodextrine existieren, von denen das eine resp. ein Teil derselben für Schizosaccharomyces Pombe vergärbar ist, der andere Teil der Achroodextrine durch Hefe Logos, welche von van Laer entdeckt wurde, der auch den Nachweis erbrachte, daß sie Dextrin vergärt, invertiert und vergoren wird.

Die Pombegärung bei verschiedenen Temperaturgraden.

Bei 10—15° R. geht die Angärung sehr langsam vor sich. Die Vermehrung ist unter diesen Vegetationsverhältnissen nicht stark; die Hefe setzt sich aber gut ab und zeigt im Gärungsbilde untergärigen Charakter. — Anders bei hoher Temperatur. An afrikanisches Klima gewöhnt, liegt für die Spalthefe das Temperaturoptimum zwischen 24—27° R. Unter dieser Bedingung setzt die Gärung schnell ein; innerhalb der ersten 24 Stunden findet dann die stärkste Kohlensäureentwickelung statt; der Charakter der Pombehefe ist bei dieser Temperatur ein obergäriger.

Säurebildung der Spalthefe.

Wie die Zahlen für die Säurezunahme in Tabelle I zeigen, ist dieselbe bei der Pombe beträchtlich größer als bei den anderen Hefen. Die Säurebildung steigt mit zunehmender Konzentration der Nährlösung; so wurde z. B. in einer Maische von 28,6% B. und 0,3° Säure mit der Pombe ein Endsäuregehalt von 1,2° erreicht, ohne daß Bakterien tätig gewesen wären.

Die Eigenschaft der Pombehefe, Säure zu produzieren, ist demnach stärker ausgebildet als bei anderen Hefen; ihr Spaltpilzcharakter tritt deutlich in dieser Eigentümlichkeit zu Tage. Gleichfalls gemeinsam mit den Bakterien hat die Spalthefe die Empfindlichkeit gegen fremde Säuren. Akklimatisationsversuche der Pombe an Flußsäure hatten ein ungünstiges Ergebnis. Während Brennereihefe Rasse II bei einer allmählich auf 30 g pro Hektoliter gesteigerten Flußsäuregabe noch flott arbeitete, verlor die Spalthefe bei diesem Säuregehalt bald ihr Gärvermögen und ging auch später zu Grunde.

Die starke Säureproduktion war Veranlassung zu prüfen, ob die Pombe bei Gegenwart von Spaltpilzen imstande sei, den Kampf mit denselben erfolgreich aufzunehmen und ohne den in der Praxis künstlich erzeugten Schutz der Hefe, die Milchsäure, eine hohe Vergärung zu bewirken.

Pombe unterdrückt Spaltpilze.

Als Beweis für diese Behauptung dienen die folgenden Versuche.

Erster Versuch: Eine Vorderwürze, welche pro Liter mit 20 g einer in Bakteriengärung befindlichen Malzmaische versetzt worden war, wurde mit Hefe Frohberg, Rasse II und Pombe zur Gärung angestellt.

Als Material zur Bereitung der Bakterienmaische diente Schrot von niedrig abgedarrtem Malz, welches mit Wasser zu einem Brei angerührt

Tabelle II.

Vergleichende Gärversuche zwischen Pombe, Rasse II und Frohberg bei Gegenwart von Spaltpilzen.

	Menge und Art der Hefe	Temperatur während der Gärung	Gärdauer	Sacch.-Anzeige nach beendeter Gärung	Säurezunahme während der Gärung in Säuregraden	Bemerkungen. Nach beendetem Versuch.
1.	a) 0,8 pCt. Pombe	20° R.	6 Tage, Gärung beendet	2,75	0,45°	Kein Bakterienhäutchen. Mikroskop.: Bakterien stark unterdrückt.
	b) 0,8 „ Pombe	Bei 20° R. 6 Tage, Gärung beendet; dann noch 14 Tage bei 10–16°		—	0,45° nach 20 Tagen	Kein Bakterienhäutchen. Mikroskop.: lebende Bakterien vereinzelt.
2.	0,8 „ Pombe	10—16° R.	6 Tage, Gärung beendet	2,05	0,65°	Kein Bakterienhäutchen. Mikroskop.: Bakterien etwas unterdrückt.
3.	2,0 „ Rasse II	20° R.	6 Tage, Gärung beendet	3,30	1,35°	Starkes Bakterienhäutchen. Mikroskop.: zahlreiche lebende Bakterien.
4.	3,0 „ Frohberg	20° R.	6 Tage, Gärung beendet	5,95	6,35°	Starkes Bakterienhäutchen. Mikroskop.: lebende Bakterien sehr zahlreich.

Anmerk.: Es wurden nach der Lindnerschen Methode Tröpfchenkulturen angestellt.

wurde. In drei Portionen eingeteilt, blieb die eine bei Zimmertemperatur, die zweite bei 33° R. und die dritte bei 40° einige Tage sich selbst überlassen. Das Gemisch dieser drei bei verschiedener Temperatur gehaltenen Maischen wurde zur Vorderwürze hinzugegeben. Ferner wurde dieselbe nach eintägiger Gärung noch pro Liter mit 1 ccm eines zur Essigsäurekultur angestellten Bieres[1]) und mit Essigpilzkahmhaut geimpft. Die Vorderwürze enthielt nunmehr, wie mit Hilfe der Lindnerschen Tröpfchenkultur festgestellt wurde: Milch-, Butter-, Essigsäurestäbchen, Bacterium termo (dieses nur zu Beginn der Gärung), Schimmelpilzsporen und vereinzelt wilde Hefen.

Die Sacch.-Anzeige der mit der Bakterienmaische vermischten Vorderwürze betrug 18,1 pCt. Balling; Säure 0,2°.

Die Säurezunahme ist in Fall 4 und 3 (Tabelle II) außerordentlich stark, dementsprechend war auch der mikroskopische Befund. Hefe Frohberg wurde sogar von den Bakterien so stark beeinträchtigt, daß sie nicht annähernd die Endvergärung erreichte. Hingegen unterdrückte die Pombe, wenn die Gärung bei einer Temperatur von 20° R. geführt wurde, die Spaltpilze fast gänzlich, während selbst bei niederer Temperatur, bei der bekanntlich die Pombegärung sehr träge verläuft, nur wenig von Spaltpilzen herrührende Säure zu konstatieren war.

Tritt eine Infektion von Pombebier resp. einer vergorenen Maische mit frischen Bakterien ein, so können dieselben, wie wiederholt beobachtet wurde, da die Pombezellen nicht mehr in Tätigkeit, vielmehr schon tot oder sehr geschwächt sind, eine erhebliche Säurebildung bewirken.

Zweiter Versuch: Eine Maische, aus Darrmalz, Kartoffelstärke und Rohrzucker hergestellt, wurde mit in Butter- resp. Milchsäuregärung befindlichen Trebern im Verhältnis von 100:8 versetzt und dann mit 1 pCt. Pombehefe bei 26° R. angestellt. Sacch.-Anzeige der Maische vor der Gärung = 27,25 pCt.; Säure derselben = 0,25°. Die Gärung war nach 90 Stunden beendet. Das mikroskopische Bild ergab, daß die Bakterien stark unterdrückt worden waren. Die Maische war bis 2,85 pCt. Balling vergoren und enthielt 14,4 Vol.-Prozent Alkohol. Der Säuregehalt war auf 0,85° gestiegen. Es resultiert sonach eine Säurezunahme von 0,6°, eine für die Spalthefe nicht abnorme Menge bei einer 27,25prozentigen Maische;[1]) vergl. Tabelle I. Bakterien haben also offenbar im vorliegenden Falle nicht zur Bildung der Säure beigetragen. Dieselben waren, dem mikroskopischen Befund nach zu schließen, entweder getötet oder stark geschwächt. Sie konnten auch in einer Brauereiwürze von 13¾ bis 14 pCt. Balling keine außergewöhnliche Säuerung hervorrufen. Der bei dem vorigen Versuche erhaltene Bodensatz von Pombehefe, vermischt mit

1) Die Pombehefe bildet ja selbst, wie schon oben erörtert worden ist, eine gewisse Menge Säure, welche mit zunehmender Konzentration der Maische steigt.

den bakterienhaltigen Trebern, wurde nämlich mit Würze aufgefrischt. Nach fünf bis sechs Tagen war die Gärung beendet, und am zehnten Tage betrug die Säurezunahme nur 0,3 Säuregrad, also nicht mehr, als die Pombehefe in einer bakterienfreien Würze von 13—14 pCt. Balling erzeugt hätte.

Dritter Versuch: Eine Maische von 23,00 Sach.-Anzeige wurde unter Zusatz von 10—12 pCt. bakterienhaltigen Trebern mit der Pombe vergoren. Menge der Hefe: 1 pCt. Temperatur: 26—28° R. Gärdauer: 90 Stunden. Sach.-Anzeige nach der Gärung: 2,15 pCt. Alkohol in Vol.-Prozent: 11,6. Säurezunahme: nur 0,55°. — Der bei diesem Versuche erhaltene Bodensatz wurde mit einer Bierwürze von ca. 14 pCt. Balling von neuem zur Gärung angestellt. Temperatur während der Gärung: 16—20° R. Nach zehn Tagen betrug die Säurezunahme nur 0,35°. Die Bakterien waren tot oder stark geschwächt.

Vierter Versuch: Eine Malz-Kartoffelstärkemaische wurde mit einer Essigsäurekultur geimpft und teils mit Brennereihefe Rasse II, teils mit Pombe vergoren. Vor dem Anstellen spindelte die geimpfte Maische 18,95 pCt. Balling; Säure = 0,5°.

Die folgende Tabelle erläutert die Versuche.

Tabelle III.

Gärung von Pombe und Rasse II bei Gegenwart von Spaltpilzen.

Menge und Art der Hefe	Temperatur während des Versuchs	Gärdauer	Dauer des Versuchs	Sach.-Anzeige nach der Gärung	Säurezunahme während des ganzen Versuchs	Makroskopischer Befund. Nach 6 Tagen
1. 1 pCt. Pombe	25° R.	4 Tage	6 Tage	0,6	0,5	Kein Bakterienhäutchen.
2. 1 „ Rasse II	25° R.	4 Tage	6 Tage	1,7	0,8	Deutliches Bakterienhäutchen

Die vorstehenden Untersuchungen beweisen zur Genüge, daß die Pombe Bakterien zu unterdrücken vermag.

Diese Tatsache und die Eigenschaft der Spalthefe, eine stärkere Vergärung als alle anderen bisher untersuchten Hefen herbeizuführen, legten den Gedanken nahe dieselbe in die Praxis einzuführen, zumal sie sehr viel Alkohol bilden kann. Denn sie vergor eine Zuckerlösung von 35,3% B. bis auf 4,05% B. und erzeugte 17,5 Vol.-Prozent Alkohol.

Tabelle IV.

Gärversuche mit hochprozentigen diastasehaltigen Maischen bei Anwendung von Hefe Pombe, Rasse II und Gemischen beider.

	Art des Gärgefäßes	Menge und Art der Hefe	Sacch.-Anzeige vor der Gärung	Sacch.-Anzeige nach der Gärung	Säurezunahme während der Gärung in ccm. N. N.	Temperatur in Réaumur-Graden	Mikroskopischer Befund
A	Mit Wattestopfen verschlossene Flasche	1 pCt. Pombe	28,6	3,8	0,9	20 - 22°	Hefe etwas geschwächt, aber wenig tote Zellen;
	Offenes Becherglas	1 pCt. Pombe	28,6	3,45	0,9	20—22°	Sonst gut.
B	Mit Wattestopfen verschlossene Flasche	1 pCt. Rasse II	28,6	8,8	0,55	20—22°	Hefe wie bei A.
	Offenes Becherglas	1 pCt. Rasse II	28,6	4,1	0,5	20 - 22°	
C	Mit Wattestopfen verschlossene Flasche	je ½ pCt. Pombe und Rasse II	28,6	2,2	0,75	20—22°	Pombe fast gänzlich tot, wenig gute Zellen; Rasse II ganz gut.
D	Mit Wattestopfen verschlossene Flasche	0,7 pCt. Pombe 0,3 pCt. Rasse II	28,6	2,2	0,75	20—22°	Pombe schlecht, viel tote Zellen; Rasse II ganz gut.
	Offenes Becherglas	0,7 pCt. Pombe 0,3 pCt. Rasse II	28,6	1,15	0,65	20 - 22°	Pombe erheblich geschwächt, viel tote Zellen; Rasse II ganz gut.
E	Mit Wattestopfen verschlossene Flasche	0,3 pCt. Pombe 0,7 pCt. Rasse II	28,6	2,15	0,7	20—22°	Pombe fast nur tote Zellen; Rasse II ganz gut.

Einwirkung der Pombehefe auf hochprozentige diastasehaltige Maischen.

Zur Vergärung kamen ausschließlich hochprozentige diastasehaltige Maischen, die entweder aus Kartoffelstärke, Malz und Rohrzucker, oder aus gedämpften resp. gekochten Kartoffeln und Malz bereitet wurden. Eingemaischt mit 38° R., nach 1 Stunde angewärmt und in 2 Stunden 50° R. erreicht, ½ Stunde auf Ruhe, dann auf 52° R. aufgemaischt. Als Maßstab für die Gärungswirkung von Schizosaccharomyces Pombe diente Rasse II.

Die erste Versuchsreihe wurde teils in mit Wattestopfen verschlossenen Flaschen, teils, um mehr der Praxis angepaßte Bedingungen zu haben, in offenen Bechergläsern ausgeführt. Da im letzteren Falle aber die Verdunstung sehr groß ist, wurde nach Beendigung der Gärung die Maische in den offenen Gefäßen auf das ursprüngliche Gewicht wieder aufgefüllt.

Vermaischt wurden 2250 g Darrmalz, 1125 g Kartoffelstärke, 600 g Rohrzucker, 9 Liter Wasser. Der natürliche Säuregehalt dieser Maische betrug 0,15 Säuregrad; derselbe wurde durch Zusatz von Milchsäure auf 0,3° gebracht. Die zum Anstellen verwendete Maische enthielt auf 500 ccm Flüssigkeit 40 g Treber, welche der filtrierten Maische zugefügt wurden, um durch mechanische Mittel die Tätigkeit der Hefe anzuregen. — Die Gärung wurde nach 90 Stunden abgebrochen; sie war in allen Fällen nur noch als schwach zu bezeichnen. — Die übrigen Daten sind aus der Tabelle IV ersichtlich.

Die dort angegebenen Zahlen bedürfen keines Kommentars; die Pombe hat zweifellos mehr geleistet als Rasse II. Merkwürdig erscheint nur auf den ersten Blick, daß die Vergärungen bei Anwendung des Hefengemisches höher sind als bei den mit Pombe allein angestellten Maischen. Der Grund dafür liegt entweder darin, daß das Enzym der Pombe Dextrin invertiert hat, wodurch der Rasse II eine höhere Vergärung ermöglicht wurde, oder in der durch die Konkurrenz beider Hefen bis zur letzten Anspannung angeregten starken Tätigkeit der Spalthefe.

Dieser Erklärung entspricht auch der mikroskopische Befund; denn während die Hefen, für sich allein geführt, nach 90stündiger Tätigkeit noch leidlich gut aussahen, hatte namentlich Hefe Pombe in den Gemischen während der Gärung stark gelitten; ja sie war sogar größtenteils abgestorben.

Da die Leistungen von Hefegemischen größer waren als die der einzelnen Komponenten, so wurden weitere Untersuchungen nach dieser Richtung hin angestellt. Sie führten zu dem Ergebnisse, daß die Hefen weniger leiden und die Vergärungen am höchsten sind, wenn die Hefen erst getrennt geführt und 42 Stunden nach dem Anstellen vereinigt werden.

Da Schizosaccharomyces Pombe in erheblichem Grade Säure bildet,

die auf Rechnung der Alkohol bildenden Stoffe entsteht, und somit die Alkoholausbeute durch die Säure vermindert wird, so wurde versucht, teils durch Neutralisation, teils durch eine künstlich bewirkte Säuerung die Säurebildung der Pombehefe aufzuheben.

Als Neutralisationsmittel diente kohlensaurer Kalk, und zwar wurde etwas mehr davon hinzugesetzt, als zur Bindung der voraussichtlich entstehenden und der aus der Maische stammenden Säure nötig ist.

Zum Ansäuern wurde Milchsäure benutzt. Die näheren Daten enthält die Tabelle V.

Tabelle V.

Verhalten von Pombe und Rasse II gegen Milchsäure.

		Zusammensetzung der Maische	Menge und Art der Hefe	Menge des hinzugesetzten kohlensauren Kalkes resp. der Milchsäure	Saech.-Anzeige vor der Gärung	Saech.-Anzeige nach der Gärung	Alkohol in Vol.-Prozent
A	1	2250 g Darrmalz, 1125 g Kartoffelstärke, 600 g Rohrzucker, 9 Lit. Wasser. Die Maische wurde aufgekocht. Die natürliche Säure der Maische betrug 0,1°	1 pCt. Pombe	1 g kohlensaurer Kalk auf 300 ccm Maische	29,4	1,45	16,5
	2		1 „ „	—	29,4	0,8	16,9
	3		1 „ „	Milchsäure bis zur Säuerung von 0,7°	29,3	1,6	16,1
	4		1 „ „	Milchsäure bis zur Säuerung von 1,9°	29,1	3,65	14,9
	5		1 „ „	Milchsäure bis zur Säuerung von 3,1°	28,9	4,65	14,0
B	6		1 „ Rasse II	—	29,9	13,6	—
	7		1 „ „ II	Milchsäure bis zur Säuerung von 3,1°	29,45	17,5	—
C	8		je $^1/_2$ pCt. Pombe und Rasse II	Milchsäure bis zur Säuerung von 3,1°	29,45	6,1	13,5

Auch diese Versuchsreihe lehrt, daß mit der Pombehefe beträchtlich höhere Vergärungen erzielt werden als mit Brennereihefe Rasse II. Sie zeigt aber auch, daß Rasse II gegen Milchsäure empfindlicher ist als Pombe, welche mit steigendem Säuregehalt allerdings auch schlechtere Vergärung gibt.

Es folgen nun die Versuche mit Kartoffelmaischen. Bereitet wurden dieselben folgendermaßen: Die gewaschenen Kartoffeln wurden gar gekocht, sodann mit Hilfe einer Fleischhackmaschine zerkleinert und mit 250 g Grünmalz und $^3/_4$ bis $1^1/_4$ Liter Wasser pro 5 kg Kartoffeln vermaischt. Über die Maischtemperatur siehe weiter oben.

Um Anhaltspunkte betreffs der Temperatur zu gewinnen, bei der die Gärungen der Kartoffelmaischen bei Verwendung von Hefe Pombe am zweckmäßigsten zu führen sind, und vor allen Dingen, um die höchste Temperaturgrenze für diese Gärung festzustellen, wurde dieselbe Maische einmal zwischen 24° und 29° R., ein anderes Mal zwischen 23° und 26° R. vergoren. Das Temperaturintervall von 22—24° R. hatte sich schon an der Hand vorhergehender Versuche als ein günstiges erwiesen, so daß hierauf bezügliche Untersuchungen nicht nötig erschienen.

Die Gärungen waren nach 5 Tagen beendet. Im zweiten Falle hatten sich bei einer Sacch.-Anzeige von 2,15 p(St. Blg. 8,8 Vol.-Prozent Alkohol gebildet; die Hefe sah verhältnismäßig noch gut aus. Die Analyse der bei höherer Temperatur geführten Maische ergab eine Sacch.-Anzeige von 2,5 p(St. und 8,6 Vol.-Prozent Alkohol. Das mikroskopische Bild zeigte eine größtenteils sehr geschwächte Hefe. Es fanden sich viel tote und nur wenig gute Zellen. Die Temperatur bis 29° R. ist demnach selbst für die an afrikanisches Klima gewöhnte Pombe bei der Vergärung von Kartoffelmaischen nicht empfehlenswert.

Eine andere Kartoffelmaische von 21,0 p(St. Blg. wurde teils mit Brennereihefe Rasse II, teils mit Spalthefe, und zwar mit je 2 p(St., angestellt. Die erstere wurde bei einer Temperatur von 22—24° R., die Hefe Pombe zwischen 22° und 26° R. geführt.

Nach drei Tagen war die Maische von Rasse II bis 2,0 p(St. am Saccharometer, und nach 6 Tagen bis 1,85 p(St. Blg. vergoren; es waren im ganzen 10,1 Vol.-Prozent Alkohol gebildet worden.

Die Pombe hatte in derselben Zeit die Maische bis 2,8 p(St. resp. 2,2 p(St. Sacch.-Anzeige vergoren. In diesem Falle waren 10,25 Vol.-Prozent Alkohol entstanden.

Die ersten Versuche im großen wurden in Gröbzig bei Herrn Oberamtmann Säuberlich ausgeführt, die folgenden in der unter Leitung des Herrn Brennereiverwalter Hesse stehenden Brennerei in Marzdorf.

Es sei nur hier bemerkt, daß auch in Marzdorf der praktische Erfolg leider nicht der erhoffte war. Die Vergärung der Hefe war zuerst tadellos; bei weiterem Führen verschlechterte sie sich jedoch konstant. Die Pombe blieb erheblich hinter Rasse II zurück, dabei sah die Spalthefe keineswegs degeneriert aus. Der Grund der schlechten Gärung lag nicht in einer etwaigen Schwächung der Hefe, sondern in der geringen Anzahl der vorhandenen Zellen. Die Pombe vermehrt sich nämlich in Kartoffelmaischen außerordentlich schlecht. Im Hauptbottich betrug die Vermehrung trotz fort-

gesetzten Rührens[1]) von Anfang an nur das Fünf- bis Sechsfache der ursprünglichen Anzahl Hefezellen. Laboratoriumsversuche zeigten aber, daß die Hefe unter passenden Verhältnissen einer größeren Vermehrung fähig sein kann. Während sie nämlich ohne Lüftung in Kartoffelmaische nur eine 3,9fache Vermehrung ergab, betrug letztere mit Lüftung das 19fache.

Da aber ohne Luftzufuhr die Vermehrung nicht genügend ist, in der Praxis aber eine Lüftungsvorrichtung, abgesehen von den Kosten, immerhin auf Schwierigkeiten stoßen dürfte, so wurde versucht, die Vermehrung der Pombehefe in Kartoffelmaischen durch andere Mittel anzuregen.

Günstig erwies sich ein Zusatz von phosphorsaurem Ammonium, durch welches besonders die Wachstumsenergie der Hefe-Pombe bei großer Hefeaussaat etwas angeregt wird.

Versuche mit Pombehefe in der Praxis.

Wie schon oben angeführt worden ist, wurde unsererseits versucht, die Spalthefe in die Praxis einzuführen. Das erste Mal in Gröbzig, unter Mitwirkung von Munsche; das zweite Mal in Marzdorf leiteten wir die Versuche allein.

Die Brennereien von Gröbzig und Marzdorf haben bekanntlich einen musterhaften Betrieb, die bei demselben erzielten Spirituserträge sind sehr hohe. Diese Betriebe eigneten sich sonach vornehmlich zu einer Konkurrenzprobe zwischen Rasse II und Pombe. — Später wurde auch Herrn Brennereiverwalter Bennewitz-Lietzen die Spalthefe zu Versuchen im großen zur Verfügung gestellt.

In Gröbzig wurden angestellt 180 Liter saures Hefegut Sacch. 21,5, Säure 1,9° mit 1¼ kg Pombehefe und zwar, dem Temperaturoptimum der Pombegärung Rechnung tragend, bei 19½° R. Temperatursteigerung bis auf 27° R. Vergärung bis 8,6; Säure 2,6.

Die Hefevermehrung betrug das 4,8fache. Die hohe Temperatur hatte der Hefe nichts geschadet.

Rasse II hatte in derselben Zeit das saure Hefegut von 21,15 pCt. Blg. bis 6,0 pCt. am Saccharometer vergoren. Säure beim Anstellen = 1,7°; in der reifen Hefe = 1,8°. — Der mit Rasse II bei 13° angestellte Bottich wurde von 20,5 pCt. Blg. bis 1,0 pCt. Blg. vergoren, bedeutend weiter als mit Pombe. Säurezunahme von 0,4° bis 0,75°.

Die Pombegärung in der Hauptmaische vollzog sich folgendermaßen: Vergärung von 20,1 pCt. bis auf 5,0 pCt.; Säurezunahme von 0,55° bis 2,9°. Temperatur 20° — 27° — 18° R. Aussehen der Hefe kräftig. Doch wurde eine Infektion durch Spaltpilze beobachtet.

1) Das Rühren hatte den Zweck, die schon teilweise gespaltenen Zellverbände zu zerreißen und so die Hefe zu energischerem Wachstum anzuregen, was auch stattfand. Die Vermehrung war aber trotzdem nicht genügend.

Das zweite Mal wurde die Pombe in süßem Hefegut geführt. Vergärung war mangelhaft, von 22,2 pCt. bis 12,2 pCt. Die Vermehrung war nur $1^1/_2$fach, Säure 1,3°. Es hatte eine schwache Infektion mit Rasse II stattgefunden.

Die Daten für die Gärung im Bottich sind folgende: Temperatur beim Anstellen 21°; Saech.-Anzeige 22,8 pCt. Blg.; Säure 0,5°.
Die Gärung verlief kräftig. Saech.-Anzeige beim Abbrennen 2,2 pCt.; Säure 1,3° R.

Das mikroskopische Bild ergab eine starke, schwer zu erklärende Infektion mit Rasse II. Beide Hefen waren stark geschwächt oder tot. Lebensfähige Bakterien fehlten.

Bei der nächsten Hefeführung trat auch hier eine abnorme Infektion durch Rasse II auf.

Spätere Versuche, die im Laboratium angestellt wurden, ergaben allerdings, daß die Pombe im Konkurrenzkampfe mit Rasse II unterliegt. Die Überwucherung durch diese Hefe findet aber erst nach wiederholter Führung statt. So vermehrte sich z. B. in einer 3 pCt. Rasse II enthaltenden Pombehefe die erstere in 3 Tagen auf 8 pCt., bei der zweiten Führung in 3 Tagen auf 20—25 pCt. und bei der dritten auf 30 pCt.

Bei der in Rede stehenden Hefemaische in Gröbzig war die Infektion in einem Tage von $^1/_2$ pCt. auf 60 pCt. gestiegen.

Es folgen nun die Versuche mit Hefe Pombe in Marzdorf.

Auch hier blieb der Erfolg aus, da die Pombe eine zu geringe Vermehrung zeigte und die Vergärung dem entsprechend sehr mangelhaft war. Selbst die Bemühungen, durch tagelang fortsetztes Rühren der Maische die Vermehrung der Hefe energisch anzuregen, führten zu keinem befriedigenden Ergebnis; die Vermehrung stieg nur bis auf das sechsfache.

Indes hielt sich die Hefe bei den drei zur Ausführung gebrachten Versuchen ziemlich frei von Infektion durch Rasse II.

Nur eine Bakterien-Infektion trat bei der zweiten Führung ein, und zwar eine erhebliche durch Essigsäurebakterien.

Die Pombe erwies sich nicht in einem so hohen Grade gegen Rasse II empfindlich ist, wie wir nach den Versuchen in Gröbzig anzunehmen geneigt waren. Das ungünstige Ergebnis der mit Pombe angestellten Versuche kann nur darauf zurückgeführt werden, daß die Hefe trotz ihrer Überlegenheit der Rasse II gegenüber hinsichtlich der Fähigkeit, Dextrin zu vergären, in Kartoffelmaischen keiner ausreichenden Vermehrung fähig ist.

Auffallen muß auf den ersten Blick das wiederholte Auftreten von Spaltpilzinfektion bei der Pombegährung in den Hauptmaischen, während doch grade Pombe, wie weiter oben durch zahlreiche Versuche bewiesen wurde, imstande ist, Bakterien zu unterdrücken. Der Grund dieser Erscheinung liegt offenbar darin, daß sich die Pombe zu schwach vermehrt hatte, mithin auch nur verhältnismäßig wenig Bakteriengift entstehen konnte, und

daß die Gärung — auch infolge der schlechten Vermehrung der Pombe — viel zu träge verlief, wodurch, zumal bei der hohen Temperatur, der Entwicklung von Spaltpilzen nichts entgegen wirkte.

Ferner können auch die im Brennereibetriebe vorhandenen Bakterien gegen die Pombehefe widerstandsfähiger sein als die im Laboratorium aus Malzmaischen gezüchteten und zu den vorn angeführten Versuchen verwandten Spaltpilze.

Die wichtigsten Ergebnisse der vorstehenden Arbeit lassen sich in folgende Sätze zusammenfassen:

Die Pombehefe ist eine Dextrin vergärende Hefe.

In Konkurrenz mit Rasse II unterliegt sie dieser, da sie nur schwacher Vermehrung fähig ist.

Auf Grund der Eigenschaft, viel Säure zu bilden, ist sie imstande, Spaltpilze zu unterdrücken.

Sie verträgt mehr Säure als Rasse II und Frohberg (untergärig).

Die Anwendung spaltpilzfeindlicher Agentien im Brennereibetriebe mit besonderer Berücksichtigung der Kunsthefeführung.

(Aus der gleichnamigen Veröffentlichung in der Zeitschrift für Spiritusindustrie, 1896.)

Von Dr. F. Rothenbach.

Die allmähliche Gewöhnung der Hefe an Flußsäure, welche durch Effront nach dessen Verfahren mit vieler Mühe durchgeführt wurde, und die durch diese Hefe in der Praxis erzielten besseren Resultate gaben Veranlassung, auch mit anderen Mineralsäuren resp. Desinfektionsmitteln diesbezügliche systematische Versuche anzustellen. Herangezogen wurden zu denselben nacheinander Salzsäure, schweflige Säure und Formaldehyd; als Vergleichsantiseptika dienten Milch- und Flußsäure.

Ohne Ausnahme sind die genannten Agentien hinsichtlich ihrer Verwendbarkeit im Brennereibetriebe schon untersucht, resp. ist ihre Anwendung in Vorschlag gebracht worden. Mit Salzsäure stellten Delbrück, Krieger, Effront und Hayduck Versuche an. Über Flußsäure arbeiteten Effront, Fluß, Maercker, Delbrück, Wittelshöfer, Jörgensen, Holm. Die Literatur über schweflige Säure ist besonders umfangreich.[1]) Beim Formaldehyd sind in erster Linie[2]) die Namen Trillat, Fernbach, Rosenberg und Windisch zu nennen. Letzterer betonte wiederholt, daß der Formaldehyd in gasförmigem Zustande ein gutes Desinfektionsmittel für Tennen und Gärkeller sei. In der Zeitschrift für Spiritusindustrie[3]) 1895, S. 37, macht Windisch auch auf das verschiedene Verhalten des Triformaldehyds

1) Mit der Anwendung der schwefligen Säure beschäftigten sich: Baierlacher, Brauer, Dams, Hatscheck, Heinzelmann, Linossier, Maercker, Pfeiffer, Ravizza, Raupel, Tietze.

2) Ferner: Cambier, Brochet, Pottevin, Herzfeld.

3) Und auch in der Wochenschrift für Brauerei, 1891, S. 1532.

gegen Hefen und Bakterien aufmerksam. Er fand, daß die letzteren „dem Aldehyd bereits unterliegen, wo die Hefen in ihrer Entwickelung und Gärtätigkeit absolut nicht beeinflußt werden."

Die Arbeiten über die in Frage kommenden Antiseptika sind sehr zahlreich. Hinsichtlich des Wertes dieser Schutzmittel gehen die Ansichten vielfach auseinander, so daß es angebracht erschien, systematisch durchgeführte, vergleichende Untersuchungen über diese Frage vorzunehmen, namentlich betreffs der Verwendung der genannten Desinfektionsmittel bei der Kunsthefeführung in Kartoffelbrennereien.

Mit der Ausarbeitung dieses Themas wurde ich von Herrn Professor Delbrück, der wiederholt darauf hingewiesen hat, daß sich, wie die Flußsäure, auch andere anorganische Säuren zur Hefeführung eignen dürften, betraut.

Begonnen wurden die bezüglichen Versuche mit der langsamen Gewöhnung der Brennereihefe Rasse II, welche sich als eine vorzügliche Kartoffelhefe bewährt hat, an verschiedene Säuren.

Allgemeine Bedingungen, unter denen die Versuche zur Ausführung gelangten.

Die Versuche wurden in der Weise angestellt, daß fortlaufend Kunsthefen unter Zusatz der zu prüfenden Säuren resp. Agentien geführt wurden. Von Zeit zu Zeit wurde mit den hierbei resultierenden Mutterhefen eine Hauptmaische vergoren.

Zum Anstellen der Hefen wurde für 700 ccm süßes Hefegut 300 ccm Mutterhefe benutzt. Bei der Hauptmaische wurden auf 1 Liter süße Maische 110 ccm Stellhefe verwendet.

Die Hefen wurden durchschnittlich mit einer Temperatur von 15° R. angestellt und in den ersten 24 Stunden zwischen 15 und 18° R. gehalten. Namentlich bei der Flußsäurehefe wurde die Temperatur zeitweilig um ca. 2—3° R. erhöht, da es oft vorkam, daß etwas geschwächte Hefen bei der niedrigeren Temperatur erst nach sehr langer Zeit, ca. 6 Stunden, angingen. Am 2. Tage wurde auf 22—24° gesteigert.

Bei den Hauptmaischen wurde ebenso wie bei den Hefen für den ersten Tag eine Temperatur von 15—18° R. und für die folgenden Tage bis zum Abbrennen eine solche von 22—24° R. gewählt.

Die Hefemaische wurde anfänglich bereitet durch Verzuckern von 375 g Kartoffelstärke mittels 500 g Darrmalz bei Gegenwart von 3 Litern Wasser. Ferner wurden noch 50—100 g Darrmalz kalt hinzugegeben. — Die Konzentration der Hefemaische betrug zuerst 20—20½ pCt. Blg., später 25—26 pCt. Balling.

Weitaus am häufigsten diente zum Anstellen der Hefe eine Maische von der Konzentration 22½—23½ pCt. Blg.

Die kalte Malzgabe erstreckte sich über einen Zeitraum von insgesamt $2^1/_2$ Monat.

Die Hauptmaische wurde fast genau so wie die Hefemaische bereitet. Indessen war die Konzentration eine stärkere. Die kalte Malzgabe schwankte bei 10 kg Maische zwischen 100 g und 300 g Darr- resp. Grünmalz in den ersten Monaten; später wurde die Gesamtmenge Malz mit vermaischt. Sowohl bei der Hefe, wie auch bei der Hauptmaische sollte durch die mit der kalten Malzgabe bewirkte starke Bakterieninfektion bezweckt werden, daß die Unterschiede zwischen den einzelnen Säuren hinsichtlich ihrer bakterienfeindlichen Eigenschaften deutlicher hervortreten.

Die Säure in dem nicht künstlich gesäuerten Hefegut betrug fast stets 0,1°, in der Hauptmaische 0,15°.

Konkurrenzversuche zwischen 1. Rasse II Flußsäure akklimatisiert, 2. Hefe Buir Flußsäure, 3. Rasse II Salzsäure akklimatisiert, 4. Rasse II Milchsäure.

Die mit Fluß- und Salzsäure geführte Brennereihefe Rasse II war langsam an die entsprechenden Säuren gewöhnt worden, und zwar betrug die Akklimatisationszeit für die erstere $4^1/_2$ Monat, für die Salzsäurehefe $2^1/_2$ Monat. Die Akklimatisierung wurde in gekochter Brauereiwürze vorgenommen.

Die Hefe Buir, welche der Brennerei Buir bei Köln entnommen war, hatte Dr. Lindner, nach Züchtung einer Reinkultur, auf flußsäurefreier Würzegelatine aufbewahrt. Nach zwei bis drei Monaten wurde hiervon eine Probe in Bierwürze geimpft, die 10 g Flußsäure pro Hektoliter enthielt. Die Hefe wurde dann nochmals mit 10 g Flußsäure pro Hektoliter, dann mit 15 g, 20 g und 30 g je einmal in Brauereiwürze geführt. Mit dieser, wieder schnell an Flußsäure gewöhnten Hefe, wurde die Hefemaische angestellt. — Die Hefe Nr. 4 war keiner vorherigen Behandlung mit Milchsäure unterzogen worden.

Begonnen wurden die Versuche am 12. September 1895 mit Rasse II Flußsäure, Rasse II Salzsäure und Rasse II Milchsäure. Nach ungefähr $1^1/_2$ Monaten wurde an Stelle der inzwischen stark mit Bakterien infizierten Milchsäurehefe die Hefe Buir in die Versuchsreihe aufgenommen.

Kunsthefeführung.

Brennereihefe Rasse II Flußsäure und Hefe Buir erhielten bei der Hefeführung zum süßen Hefegut einen Zusatz von 30 g Flußsäure pro Hektoliter, welcher während der ganzen Dauer der Versuche beibehalten wurde. Die zweite Hefe wurde anfangs mit 75 g Salzsäure pro Hektoliter geführt; später, nach Eintritt von Bakterieninfektion, welche nach ungefähr zwei Monaten erfolgte, wurde die Menge wiederholt auf 112,5 g Salzsäure pro Hektoliter gesteigert. Bei der mit Milchsäure geführten Hefe Nr. 4 betrug

der Säurezusatz zuerst so viel, daß die Acidität der Maische um 1,4 Säuregrade[1]) erhöht wurde. Im weiteren Verlauf der Versuche, nach eingetretener Infektion durch Bakterien, wurden 1,8°—2,0° Milchsäure hinzugefügt.

Am weitesten vergoren die Hefemaische in der ersten Zeit die Salzsäure- und Milchsäurehefe; zurück blieb zunächst die Flußsäurehefe Rasse II, welche sich aber nach ungefähr einem Monat soweit erholt hatte, daß sie den ersteren in der Vergärung kaum noch nachstand.

Die Hefe Buir ergab von Anfang an sehr gute Resultate.

Geradezu überraschend ist die durchgehends sehr geringe Säurezunahme bei den Flußsäurehefen; sie schwankt nur zwischen 0,05 und 0,1 Säuregraden.

Eine stärkere Säureproduktion und auch größere Schwankungen der Säurezahlen als bei Anwendung dieses Antiseptikums zeigen sich bei der Milchsäurehefe und auch schon etwas bei der Salzsäurehefe; ganz abgesehen von den Fällen, wo eine deutliche Wucherung von Bakterien festgestellt wurde.

Die Säurezunahme schwankt bei der Salzsäurehefe von 0,05° bis 0,15°, bei einer Gesamtsäuremenge von rund 0,6° in der angestellten Hefe, davon 0,4 bis 0,45° von der Salzsäure herrührend.

Die Gesamtsäuremenge der Milchsäurehefe in der angestellten Hefe ist durchschnittlich 1,55° bis 1,6°, wovon 1,4° hinzugesetzte Milchsäure ist. Die Säurezunahme während der Gärung schwankt zwischen 0,1° und 0,3°.

Ob bei Anwendung der verschiedenen Desinfektionsmittel das Säureproduktionsvermögen[2]) der Hefen beeinflußt wird, oder ob das Plus von Säurebildung bei der Salzsäurehefe und namentlich bei der Milchsäurehefe gegenüber der Flußsäurehefe von einer vorübergehenden Entwickelung von Spaltpilzen herrührt, konnte bisher nicht entschieden werden.

Jedenfalls steht die Säurebildung in enger Beziehung zu der Infektionsfähigkeit einer Hefe durch Bakterien; eine geringe, anormale Säurezunahme liefert stets den Beweis von einer die Gärung gefährdenden Entwickelung von Spaltpilzen.

Als erste wurde die Milchsäurehefe infiziert. Nach ungefähr einem Monat wurden die ersten in der Maische frisch entwickelten Stäbchen beobachtet; es war bacterium acid. lact. Die Säuregabe wurde sofort von 1,4° auf 1,7° im Hefegut erhöht und später sogar auf 2,0°, aber ohne Erfolg gesteigert. Eine deutliche Infektion durch Stäbchen blieb bestehen, die Säurezunahme betrug trotz des hohen Säuregehaltes des Hefegutes 0,4 bis 0,45 Säuregrade.

An Stelle der infizierten Milchsäurehefe wurde die Flußsäurehefe Buir zu den Versuchen herangezogen. Es konnte bei ihr niemals die geringste Menge frisch entwickelter Bakterien entdeckt werden. Letzteres gilt auch von der Flußsäurehefe Rasse II.

---

1) Säuregrad nach Delbrück ist 1 ccm Normalnatron auf 20 ccm Maische.

2) Über Säurebildung der Hefen siehe: Lindner, Mikroskopische Betriebskontrolle in den Gärungsgewerben. Prior, Bayerisches Brauer-Journal, 1896, Nr. 5. Rothenbach, Zeitschrift für Spiritusindustrie, 1896, Nr. 9. S. 71.

Ungefähr einen Monat später als bei der Milchsäurehefe trat die Infektion bei der Salzsäurehefe ein. Auch in diesem Falle war es bacterium acid. lact. Die Hefe wurde noch einmal mit dem gewöhnlichen Säuregehalt von 75 g Salzsäure pro Hektoliter, dann aber mit 112,5 g Salzsäure geführt. Da hierdurch kein Erfolg erzielt wurde, wurde die Hefe zu regenerieren versucht: einmal durch 6 tägige Kultivierung in mit 112,5 g Salzsäure versetzter Maische, ein zweites Mal in Maische unter Zusatz von 2 g gelöster Weinsäure pro 100 g Hefe, ein drittes Mal durch zweistündiges Behandeln in Maische mit Zusatz von 600 g Salzsäure und darauf folgende Züchtung während 6 Tage in anderer, nur mit 112 g Salzsäure versetzter Maische. Nach sechstägiger Behandlung schien die Entfernung der Spaltpilze geglückt zu sein. Es wurde nunmehr die Hefe unter den ursprünglichen Bedingungen, d. i. unter Zusatz von nur 75 g Salzsäure pro Hektoliter und in offenen Gefäßen[3]), geführt. Allein vergeblich, die Spaltpilze waren nur geschwächt aber nicht getötet worden. Eine gänzliche Entfernung war nicht erzielt worden.

Als eigentliches Antiseptikum Bakterien gegenüber hat sich sonach von den drei zur Konkurrenz herangezogenen Säuren nur die Flußsäure erwiesen. Milch- und Salzsäure vertrugen die einmal hieran gewöhnten Spaltpilze in einem solchen Grade, daß die Hefe unter dieser starken Säuregabe selbst erheblich litt.

Bei der Führung der Hauptmaische, welche nicht mit Flußsäure oder Salzsäure versetzt wurden, ergab sich, daß sich die Milchsäure- und Salzsäurehefe ebenfalls mit Spaltpilzen infizierten, erstere früher als letztere.

Im weiteren Verlauf der Untersuchungen wurden mit folgenden Hefen Konkurrenzversuche angestellt:

1. Flußsäurehefe Buir. 2. Schwefligsäurehefe Rasse II, nicht akklimatisiert. 3. Flußsäurehefe Rasse II, nicht akklimatisiert.

Hefe Buir und Rasse II erhielten wiederum einen Zusatz von 30 g Flußsäure pro Hektoliter. Die nicht vorher an schweflige Säure gewöhnte Rasse II wurde, mit 2 g pro Hektoliter beginnend, nach fünfmaliger Führung auf 20 g schweflige Säure (SO_2) pro Hektoliter gebracht. Da diese Säuregabe, wenigstens nach so kurzer Zeit, sich als zu stark erwies, wurde sie auf 15 g, dann auf 10 g SO_2 pro Hektoliter herabgemindert. Durch die doppelte Menge war die Hefe erkrankt; sie sah wohl noch verhältnismäßig gut aus, verlor aber in erheblichem Grade ihr Sproßvermögen, so daß bei der geringen Hefemenge die Vergärungen schlecht wurden.

Die schweflige Säure wurde zuerst in Form von saurem schwefligsauren Kalk, später von schwefligsaurem Natron hinzugegeben. Die Basicität der

3) Während des Reinigungsprozesses wurden zur Führung der Hefe sterile, mit Wattestopfen verschlossene Flaschen benutzt.

Tabelle I. **Kunsthefen.**

Konkurrenzversuche zwischen: 1. Flußsäurehefe Rasse II, 2. Flußsäurehefe Buir, *α*) nicht künstlich infiziert, *β*) künstlich infiziert, 3. Schwefligsäure-Hefe Rasse II, *α*) nicht künstlich infiziert, *β*) künstlich infiziert

	Art der Hefe	Die Hefen wurden angestellt am:	Saccharometer-Anzeige des süßen Hefegutes pCt. Blg.	Saccharometer-Anzeige der reifen Hefe pCt. Blg.	Säure der angestellten Hefe	Säure der reifen Hefe	Mikroskopischer Befund der reifen Hefe
					ausgedrückt in Säuregraden		
1	a) Flußsäurehefe Rasse II	2. März	22,80	12,70	0,4	0,45	Hefe gut, noch vielfach sprossend. Infektionsbakterien nicht vorhanden.
	b) Hefe Buir						
	α) nicht infiziert . .			1 5 5	0,4	0,45	Hefe gut. Keine Bakterieninfektion.
	β) infiziert			1 7 5	0,4	0,5	Hefe etwas geschwächt. Deutliche Bakterieninfektion.
	c) Schwefligs.-Hefe Rasse II						
	α) nicht infiziert . .			4,55	1,2	1,35	Wie b) *α*).
	β) infiziert			1,45	1,2	1,4	Hefe gut. Lebende Bakterien wenig.
2	a) Flußsäurehefe Rasse II	1. März	19,8	2 25	0,4	0,45	Hefe gut; öfters noch sprossend Keine Bakterieninfektion.
	b) Hefe Buir						
	α) nicht infiziert . .			0,35	0,4	0,45—0,5	Hefe gut. Keine Bakterieninfektion.
	β) infiziert			0,35	0,4	0,45–0,5	Hefe gut. Lebende Bakterien sehr vereinzelt.
	c) Schwefligsäure-Hefe						
	α) nicht infiziert . .			2,25	1,2	1,3	Wie b) *α*).
	β) infiziert			2,30	1,2	1,3	Hefe gut. Lebende Bakterien vereinzelt.
3	a) Flußsäurehefe Rasse II	6. März	22,85	2,50	0,4	0,45	Hefe gut, etwas geschwächt. Keine Bakterieninfektion.
	b) Hefe Buir						
	α) nicht infiziert . .			1,05	0,4	0,5	Hefe etwas geschwächt; sonst normal. Keine Bakterieninfektion.
	β) infiziert			1,1	0,1	0,5	Hefe wie b) *α*). Anscheinend keine Bakterieninfektion.
	c) Schwefligsäure-Hefe						
	α) nicht infiziert . .			3,0	1,25	1,1	Wie b) *α*).
	β) infiziert			3,0	1,25	1,45	Hefe wie b) *α*). Lebende Bakterien vereinzelt.

Lösung wurde durch Zusatz von Milchsäure aufgehoben. Außerdem wurde die Hefe noch mit einer Gabe Milchsäure bis zur Säuerung von 1,0° versehen; abgesehen von der natürlichen Säure der Maische.

Weder bei den Hefen noch in den Hauptmaischen war eine Entwickelung von Bakterien aufgetreten.

Nachdem Rasse II mit schwefliger Säure ungefähr anderthalb Monate geführt worden war, wurde ein Teil derselben unter den alten Bedingungen weiter behandelt; eine zweite Maische wurde aber stark mit Bakterien infiziert.

Dieselbe Prozedur wurde auch mit der Hefe Buir vorgenommen. Sie hatte den Zweck, festzustellen, welches von beiden Antiseptika die Infektion zuerst zu beseitigen vermag.

Die Spaltpilze stammten aus infizierter Salzsäurehefe. Es wurden 20 ccm dieser Hefe[1]) zu den in Frage kommenden Maischen hinzugesetzt. Gleichzeitig mit Beginn dieser Untersuchungen wurde auch wieder Brennereihefe Rasse II Flußsäure, diesmal aber nicht akklimatisiert, zu den Versuchen herangezogen.

Der Tabelle (Seite 108) ist hinzuzufügen, daß die Säuregabe bei den Flußsäurehefen, auch bei der künstlich mit Spaltpilzen infizierten, stets 30 g pro Hektoliter betrug. Die Schwefligsäurehefe wurde, wie zuletzt in der Konkurrenz mit Hefe Buir allein, mit 1,0 Säuregrad Milchsäure und 10 g schweflige Säure geführt. —

Bei der ersten Führung wurden die Bakterien in ihrer Entwickelung stärker durch die schweflige Säure behindert, wie ein Blick auf den mikroskopischen Befund und die Vergärung von Versuch 1 zeigt. Auf die Dauer aber blieb die Flußsäure Sieger; denn während die Spaltpilze aus der Flußsäurehefe nach dreimaliger Führung gänzlich entfernt wurden, waren sie in der Schwefligsäurehefe zu dieser Zeit noch vorhanden. Die Infektion war bei dieser nur gering; auch übte sie wenig Einfluß auf die Säurezunahme aus. Sie war aber wohl imstande, in der Hauptmaische eine Störung der Vergärung hervorzurufen; denn die Hauptmaische der Schwefligsäurehefe zeigte starke Infektion, während die mit den übrigen Hefen vergorenen Hauptmaischen nicht infiziert wurden. — Die gänzliche Entfernung der Spaltpilze gelang nicht.

Die nicht künstlich infizierte Schwefligsäurehefe Rasse II hatte sich in dieser ganzen Versuchsreihe, während einer Dauer von zwei Monaten, bakterienfrei gehalten. Im weiteren Verlauf der Versuche trat aber auch bei dieser eine Infektion ein.

Die dritte und letzte Versuchsreihe umfaßt die Hefen:

1) Die Hefezellen waren abgestorben oder stark geschwächt.

1. Flußsäurehefe Rasse II, nicht akklimatisiert; 2. Hefe Buir; 3. Schwefligsäurehefe Rasse II, nicht akklimatisiert; 4. Milchsäurehefe Rasse II mit Formaldehyd geführt, nicht akklimatisiert.

Die drei ersten Hefen wurden aus der vorhergehenden Versuchsreihe übernommen, und zwar wurden bei 2. und 3. die nicht künstlich infizierten Hefen weitergeführt. Zum Anstellen der vierten diente konservierte, durch Spaltpilze stark verunreinigte Salzsäurehefe Rasse II. Dieselbe war vor dem Zusatz von Milchsäure und Formaldehyd längere Zeit, behufs Auffrischung, unter den alten Bedingungen, also mit 75 g Salzsäure pro Hektoliter, geführt. Nach dieser Behandlung war die Hefe noch stark mit Bakterien infiziert.

Die Menge der hinzugesetzten Antiseptika betrug 0,45° Milchsäure und 30 g pro Hektoliter Formaldehyd. Vorübergehend wurde diese Gabe auf 100 g gesteigert, welches Quantum aber die Hefe in ihrer Leistungsfähigkeit sowohl wie im Aussehen stark beeinträchtigte.

Es gelang, die Formaldehydhefe nach der sechsten Führung von einer sehr starken Infektion akklimatisierter Spaltpilze zu befreien. Eine frische Infektion trat während der ferneren Führung von rund drei Monaten nicht ein. Die Flußsäurehefe blieb überhaupt frei von jeder Spaltpilzinfektion. Die Schwefligsäurehefe wurde allmählich mit Essigsäurebakterien infiziert. Die Infektion konnte nicht wieder beseitigt werden. Nähere Angaben folgen in der Tabelle II, Seite 111. Hefe Buir stammte aus einer früheren Periode. Sie hatte sich während einer Dauer von 8 Monaten frei von Bakterien gehalten.

Bei der Schwefligsäurehefe wurden nach $2^1/_2$ Monaten die ersten Anzeichen einer Infektion wahrgenommen, deren Entfernung nicht wieder gelang.

Brennereihefe Rasse II, mit Flußsäure geführt ohne vorhergegangene Akklimatisierung, bewahrte ihre Immunität gegen Spaltpilze 4 Monate hindurch.

Aus der Tabelle II ist ersichtlich, daß sowohl die Flußsäure, wie auch schon aus vorhergegangenen Untersuchungen bekannt ist, als auch der Formaldehyd ausgezeichnete Mittel zur Bekämpfung von Brennereibakterien sind. Schweflige Säure übt Spalzpilzen gegenüber wohl auch eine stark antiseptische Wirkung aus, ist aber nicht imstande, bei ungünstigen Bedingungen eine Hefe auf die Dauer rein zu erhalten.

Versuche in der Praxis sollten nun zeigen, ob es dort möglich sei, nicht nur die Kunsthefe rein zu erhalten, sondern aus einer stark mit Spaltpilzen infizierten Hefe die Spaltpilze zu entfernen.

Versuche in der Praxis.

Die bezüglichen Versuche wurden in Wiesenburg bei Herrn Brennereiverwalter Klembt ausgeführt. Die Versuche erstreckten sich über einen Zeitraum von drei Wochen; leider konnten sie nicht weiter fortgesetzt werden,

Tabelle II. Milchhefen.

Konkurrenzversuche zwischen 1. Flußsäurehefe Rasse II, nicht akklimatisiert; 2. Flußsäurehefe Buir; 3. Schwefligsäurehefe Rasse II, nicht akklimatisiert; 4. Milchsäurehefe Rasse II, mit Formalin geführt, nicht akklimatisiert und künstlich mit Spaltpilzen infiziert.

	Art der Hefe	Saccharometer-Anzeige des süßen Hefegutes pCt. Blg.	Saccharometer-Anzeige der reifen Hefe pCt. Blg.	Säure der angestellten Hefe (ausgedrückt in Säuregraden)	Säure der reifen Hefe (ausgedrückt in Säuregraden)	Menge der angewandten Antiseptika	Mikroskopischer Befund der reifen Hefe	Bemerkungen
1	a) Flußsäurehefe Rasse II. .	22,05	1,0	0,4	0,5	30 g Flußsäure pro Hektoliter	Hefe etwas geschwächt, sonst gut; frei von Bakterieninfektion	
	b) Hefe Buir.		0,9	0,4	0,5	30 g Flußsäure pro Hektoliter	wie a)	
	c) Schwefligsäurehefe Rasse II		3,7	1,25	1,4	1° Milchsäure, 10 g SO_2[1]) pro Hektol.	Hefe gut, Bakterieninfektion nicht vorhanden	
	d) Formaldehydhefe Rasse II		1,45	0,8	0,9	0,15° Milchsäure, 30 g Formaldehyd pro Hektolier	Hefe verhältnismäßig wenig geschwächt. Bakterien zahlreich	Erste Führung der Formaldehydhefe
2	a) Flußsäurehefe Rasse II. .	23,85	2,25	0,4	0,5	30 g HFl pro Hektoliter	Hefe gut. Keine Bakterieninfektion	
	b) Hefe Buir		2,6	0,4	0,5	30 g HFl pro Hektol.	wie a)	
	c) Schwefligsäurehefe Rasse II		3,75	1,3—1,25	1,45	1° Milchsäure, 10 g SO_2 pro Hektoliter	Hefe gut. Sehr geringe Bakterieninfektion	Beginn d. Essigsäureinfektion
	d) Formaldehydhefe Rasse II		17,9	0,75—0,8	0,85	0,45° Milchsäure, 100 g Formaldehyd pro Hektoliter	Hefe teilweise sehr geschwächt; vielfach aber auch gut. Lebensfähige Spaltpilze wenig	Vierte Führung der Formaldehydhefe
3	a) Flußsäurehefe Rasse II. .	22,8	4,6	0,45	0,5	30 g HFl pro Hektoliter	Hefe gut. Keine Bakterieninfektion	
	b) Hefe Buir		4,8	0,45	0,5	30 g HFl pro Hektol.	wie a)	
	c) Schwefligsäurehefe Rasse II		3,3	1,25	1,45	1° Milchsäure, 10 g SO_2 pro Hektoliter	Hefe gut. Deutliche Infektion von Essigsäurestäbchen	
	d) Formaldehydhefe Rasse II		4,75	0,75	0,8	0,15° Milchsäure, 30 g Formaldehyd pro Hektoliter	wie a)	Siebente Führung d. Formaldehydhefe

1) SO_2 = schweflige Säure; HFl = Flußsäure.

da die Kampagne beendet war. Begonnen wurden sie mit milchsaurer Hefemaische, um nicht durch die gleichzeitige Einführung von zwei neuen Antiseptika die Hefe allzusehr zu schwächen.

Erste Hefe: Saccharometer-Anzeige des sauren Hefegutes 22,85 pCt. Blg.; Säure 1,4°; Temperatur $11^1/_4$° R. Die Hefe wurde wie gewöhnlich angestellt unter Zusatz von 10 g Formaldehyd pro Hektoliter.

Die Hefe kam gut an und vergor in 24 Stunden bis 4,15 pCt. Blg. Die Temperatur der reifen Hefe betrug $22^3/_4$°; Säure 1,6°. Das mikroskopische Bild zeigte eine gute Hefe, aber auch noch zahlreiche lebendig aussehende Milchsäurestäbchen.

Die zweite Hefe wurde mit 20 g pro Hektoliter Formaldehyd angestellt. Saccharometer-Anzeige des sauren Hefegutes 23,5; Säure 1,2°. Anstelltemperatur $11^1/_4$° R. Nach 22 Stunden betrug die Vergärung der reifen Hefe 6,7 pCt. Blg.; die Säure nur 1,3°. Die Temperatur war bis 21° R. gestiegen. Diesmal war der mikroskopische Befund schon ein wesentlich anderer als bei der ersten Hefeführung. Die Bakterien waren nämlich größtenteils stark geschwächt oder tot; es wurden nur wenig gut aussehende Zellen beobachtet. Die Strichkultur ergab das gleiche Resultat. Das Aussehen der Hefe war gut; sie enthielt nur etwa 1 pCt. tote oder kranke Zellen.

Bei der dritten Hefeführung wurde mit einem Schlage die Milchsäure durch Salzsäure ersetzt. Die Zugabe betrug 50 g pro Hektoliter. Außerdem bekam die Hefemaische einen Zusatz von 20 g Formaldehyd pro Hektoliter. Die plötzliche Änderung der Säure und der Zusatz von Formalin übten auf die Hefe einen sehr nachteiligen Einfluß aus. Die Vergärung kam in den 22 Stunden nur bis 9,8 pCt. Blg., aber die Vergärung der Hauptmaische war ebenso wie vor der Benutzung der Antiseptika. Doch waren sämtliche Bakterien in der Hefe anscheinend tot.

Die vierte Kunsthefe wurde mit 50 g Salzsäure und 10 g Formaldehyd pro Hektoliter geführt und die Zugabe von Grünmalz zur Maische erhöht. Die Vergärung war besser, als bei der dritten Hefeführung. Stäbchen fanden sich nur vereinzelt und waren tot.

Bei der zum fünften und sechsten Male geführten Hefe, welche statt mit 10 g mit 20 g Formaldehyd versetzt worden war, fehlten die Bakterien vollständig.

Das Ergebnis der vorstehenden Versuche war, daß die gänzliche Entfernung der Bakterien aus der Hefe schon nach viermaliger Führung gelang, ohne daß die Hefe längere Zeit durch die Desinfektionsmittel geschädigt wurde. Die „Akklimatisierung" der Milchsäurehefe an beide neue Antiseptika (Salzsäure und Formaldehyd) hatte sich nach sechsmaliger Führung vollzogen. Bei den Hauptmaischen verlief die Gärung reiner als bei dem Milchsäureverfahren. Demgemäß war auch die Alkoholausbeute eine höhere.

Trennung hoch- und niedrigvergärender untergäriger Hefenrassen durch geeignete Gärführung.

Vortrag von F. Schönfeld in der dritten technischen Versammlung der Oktobertagung des Vereins „Versuchs- und Lehranstalt für Brauerei" 1901.

(Jahrbuch der Versuchs- und Lehranstalt für Brauerei in Berlin, 1902.)

Natürliche Reinzucht bei der Untergärung.

Nach denselben Gesetzen, nach denen sich wilde Hefen und Kahmhefen von normalen Hefen sondern lassen, müssen sich auch die normalen Hefen und besonders die hoch- und niedrigvergärenden Gruppen voneinander sondern lassen. In der Praxis sind schon vor Einführung der Reinhefe Saathefen mit hoher und niedriger Vergärung in Verwendung gewesen und in manchen Brauereien fast konstant Hefen z. B. von niedriger Vergärung geführt, die ihre Eigenschaft nicht nur in der alten Brauerei bewahrt haben, sondern sie auch behielten, wenn sie in andere Betriebe verpflanzt wurden. Der Hefewechsel war allgemein bekannt. Wenn in einem Betriebe Anstellhefe von bestimmten Eigenschaften verlangt wurde, so wußte man genau, an welche Brauereien man sich zu wenden hatte, um etwa hoch- oder niedrigvergärende Hefensaat zu beziehen.

Wie konnte sich aber bei den einen Betrieben eine Hefe von solchen, bei anderen wieder eine Hefe von anderen Eigenschaften herangebildet haben, wenn nicht die natürliche Züchtungsart bei der Gärführung eine solche Scheidung der Hefegruppen zustande gebracht hätte?

Durch die Wahl bestimmter Gärtemperaturen, durch Lüftung und gewisse praktische Handhaben bei der Hefezüchtung in durchaus konsequenter Durchführung von Gärung zu Gärung konnte allein nur eine Sonderung möglich werden.

Der Schichtenbildung vor allem mußte diese Aufgabe der Gruppentrennung zufallen. Sie war das geeignetste Mittel, um gerade den schwach-

vergärenden, aber schnell klärenden und stark klumpenden Hefen bei bestimmter Gärführung und Auswahl der Hefeaussaat zur Weiterzüchtung das Übergewicht über die hochvergärenden Gruppen zu geben. Denn wie wäre es sonst erklärlich, daß sich neben den stark vergärenden Hefen, welche sich die Nährstoffe im Bier respektive in der Würze schneller und ausgiebiger zum Aufbau neuer Zellen zunutze machen, mehr Alkohol bilden und viel reichlicher sich vermehren können, als die schwachvergärenden, die letzteren sich behaupten und sogar sich vermehren könnten?

Dadurch, daß die Hefen mit niedriger Vergährung, welche außerdem noch viel kleinzelliger sind als die hochvergärenden, schnell angären und in Sprossung kommen, ihre Vermehrungsfähigkeit auch wieder eher einstellen, sich danach zu großen Flocken zusammenballen und sodann zu Boden sinken, trennen sie sich von den hochvergärenden Gruppen, welche langsamer angären, längere Zeit zum Ausreifen gebrauchen und auch länger im Biere schweben bleiben.

Bei den von Munsche angestellten Versuchen, die wilde Hefe, die zu 14% einer normalen zugesetzt war, durch warme Gärung zu entfernen, stellte sich bei der Untersuchung des bei der Gärung gebildeten Bodensatzes heraus, daß die unterste Hefeschicht am wenigsten mit wilden Hefen durchsetzt war, und daß nach oben zu in immer steigendem Maße die Ablagerung von wilden Hefen zugenommen hatte. Wurde dann zur Fortpflanzung nur die unterste Schicht benutzt, diese schließlich noch energisch geschlämmt, so war in kurzem die normale Hefe vollständig von der wilden gereinigt.

Hatte sich hier die normale, infolge ihrer Großzelligkeit, ihres höheren spezifischen Gewichtes, ihrer Fähigkeit, in Flocken zusammenzuballen, und schließlich nicht minder wegen ihrer kräftigen Gär- und Vermehrungsintensität besser und schneller entwickeln können als die wilde und darum sich früher gesetzt als diese, so mußte es bei einem Gemisch von hoch- und niedrigvergärenden normalen Hefen ebenfalls zu einer Trennung kommen, wenn die Hefen in ihrem Gär- und Wachstumsvermögen, in ihrer physiologischen und auch physikalischen Eigenschaft verschieden sind.

Mischhefe als Stellhefe in der Versuchsbrauerei.

Es war vor mehr denn Jahresfrist schon einmal eine Hefe aus einer kleinen österreichischen Brauerei in unsere Versuchsbrauerei eingeführt, welche keine Reinhefe war, auch sonst nicht in der Zusammensetzung ein einheitliches Saatgut bildete, sondern aus einem Gemisch von zwei ganz verschiedenen Heferassen bestand, nämlich aus etwa 30% niedrigvergärenden und 70% hochvergärenden Hefen. Und diese Hefe, welche nach Mitteilung des Besitzers der Brauerei, von welchem wir sie bezogen hatten, schon einige Jahre mit gleich gutem Erfolge ohne Wechsel in seinem Betriebe geführt wurde, änderte sich bei uns nach dreimaligem Durchgehen in der Zusammensetzung derart, daß die hochvergärende bis auf 90% zunahm, und die niedrigver-

gärende auf 10% herabgedrückt wurde; aber trotzdem war das Gärungsbild, Aussehen, Höhe der Kräusen, Geruch des Bieres, Bruchbildung und Vergärung gleich niedrig wie zu Anfang geblieben. Die bei uns angewandte Gärführung hatte also nach dreimaligem Durchführen schon ein starkes Zurückdrängen der einen und zwar in diesem Falle der schwächeren zur Folge gehabt, ohne daß wir in der Handhabung der Gärführung andere Mittel gebrauchten, als wir sie sonst bei unseren Reinhefen benutzten. Von selbst also hatte die stärkere ihr Übergewicht über die schwächere noch bedeutend vergrößert und hätte schließlich die letztere ganz und gar unterdrückt, wenn die Hefe noch öfter durchgeführt wäre. Das lag aber nicht im Interesse des Betriebes. Die Hefe mußte, da sie im Betriebe nicht verwendbar war, verworfen werden. Diese konsequente Befolgung eines bestimmten Systems bei der Gärführung, in diesem Falle eine lange Gärdauer von 11 bis 12 Tagen, ein vorsichtiges, nicht allzu scharfes Fortnehmen der Oberhefe und die alleinige Verwendung der Kernhefe verschob das Verhältnis bei den Heferassen zu Gunsten der hochvergärenden und kräftigen. Es war das ein schlagender Beweis für den Satz, daß in einem Betriebe mit systematischer gleichmäßiger Fortzüchtung der Saathefe ein Gleichgewichtszustand, gleichsam ein modus vivendi, zwischen zwei verschiedenartigen Heferassen nicht gut möglich ist, und am Ende immer eine der beiden weichen muß. Nichtsdestoweniger kann aber in einer Brauerei ein solches Rassengemisch doch unter Umständen jahrelang bestehen, wenn bei Innehaltung der Gärtemperaturen, der Hefeaussaat und der Gärdauer u. s. w. keine Einheitlichkeit und Konsequenz herrscht. Denn dadurch nur kann die Tatsache erklärlich werden, daß in jener vorhin angeführten Brauerei hoch- und niedrigvergärende Hefen zusammen in einer Betriebshefe jahrelang fortgezüchtet werden konnten. Solche Verhältnisse sind aber nicht die gewöhnlichen, sondern nur in Ausnahmefällen möglich.

Künstliche Mischung von hoch- und niedrigvergärenden Rassen als Stellhefe.

Die von uns in der Versuchsbrauerei gemachte Erfahrung reizte uns nun, die von Munsche in Angriff genommenen, aber leider ohne Resultat gebliebenen Versuche, hoch- und niedrigvergärende normale Brauereihefen künstlich zu mischen und dann durch geeignete Gärführung zu trennen, im großen wieder aufzunehmen und sie im praktischen Betriebe zur Ausführung zu bringen. Denn es schien nur zu wahrscheinlich, daß das Fehlschlagen der Munscheschen Versuche auf die Versuchsanstellung selbst, bei welcher er sich nur kleiner Gefäße im Laboratorium bediente, in denen die Absetzung der Hefen eine ungleichmäßige blieb und die Trennung der Schichten nicht vollständig von statten ging, zurückzuführen war. War diese Voraussetzung und Annahme richtig, so mußte in der Praxis unter Zuhilfenahme großer Gärbottiche der Erfolg ein viel besserer sein.

In der Versuchsbrauerei wurde schon seit einiger Zeit neben der gewöhnlichen Betriebshefe, welche dem Typus der hochvergärenden Frohberggruppe angehört und im Gärkeller eine mittlere Vergärung, von rund 60%, ergibt, auch eine niedrigvergärende, dem Saaztypus angehörende Hefe geführt, welche nur eine Vergärung von knapp 40% gibt.

Benutzung der untersten Schicht als Stellhefe.

Diese beiden Hefen wurden nun nach Augenmaß in gleichem Verhältnis, wie sich aber bei der Analyse ergab, in wirklichem Verhältnis von 15 : 23 gemischt und mit dem Gemisch alsdann ein Bottich angestellt. Auf Grund einer nach der Anstellung gemachten Hefenanalyse stellte sich heraus, daß auf 15 hochvergärende 23 niedrigvergärende Hefezellen entfielen. Nach beendigter Gärung mit sehr gutem Bruche wurde die obere Hefenschicht stark abgestrichen, auch von der Kernschicht ein gutes Teil fortgenommen und zur Fortzüchtung nur die untere Schicht benutzt. Daß diese wieder mehr niedrigvergärende als hochvergärende Zellen enthielt, lehrt uns wieder die Untersuchung. Denn es fanden sich hier 9 hochvergärende und 31 niedrigvergärende unter 40 untersuchten Zellen, während in der oberen Schicht mehr hochvergärende als niedrigvergärende, nämlich 21 : 15 vorhanden waren. Im Biere fanden sich wieder die niedrigvergärenden in der Überzahl, nämlich 22 gegen 16 hochvergärende.

Um also — das war der Zweck, den wir bei diesen Versuchen verfolgten — durch geeignete Maßnahmen bei der Auswahl der Hefenaussaat die schwachvergärende Hefe gegen die hochvergärende auszuspielen und sie schließlich so zu begünstigen, daß die hochvergärende und stärkere Rasse am Ende das Feld räumen muß, wurden diejenigen Teile der Hefenschicht entfernt, welche mehr von der hochvergärenden Rasse enthielten, und zur Aussaat nur die unterste Schicht verwandt, in welcher die niedrigvergärenden die Mehrheit hatten.

So führten wir nun einige Gärungen fort und hatten nach dem äußeren Verhalten der Gärung, der Kräusenbildung, des Bruches, Geruches und Geschmackes des Bottichbieres, des Vergärungsgrades u. s. w. anscheinend die hochvergärende wohl ganz herausgedrängt. Denn die Bottiche der Mischhefe zeigten absolut keinen Unterschied in ihrem ganzen Verhalten von den mit der niedrigvergärenden Reinzuchthefe allein angestellten, welch letztere ganz charakteristische Eigenarten aufweist, die nur dieser Gruppe der Saazhefen zukommen. Jedenfalls durfte man annehmen, daß die niedrigvergärende ganz entschieden das Übergewicht behalten hätte. Die Vergärungen waren bei den ersten drei Bottichen oder vielmehr bei der ersten, zweiten und dritten Anstellung allerdings näher denen der hochvergärenden Betriebshefe, kamen aber dann denen der niedrigvergärenden Rasse ganz nahe, so daß man noch mehr in dem Glauben bestärkt wurde, daß die hochvergärende bereits herausgedrängt sei. Und doch verhielt es sich in Wirklichkeit ganz anders.

War das äußere Bild die genaue Kopie der von der Hefe Saaz erzeugten Gärungserscheinung, der Effekt in der Praxis auch der, als ob nur die eine Hefe Saaz da wäre und nichts mehr von der hochvergärenden Rasse zu merken sei — denn der Vergärungsgrad im Bottich wurde beim vierten Anstellen der Mischhefe fast derselbe wie bei den mit Hefe Saaz allein angestellten Bottichbieren —, so waren das alles doch nur Täuschungen über die tatsächlich vorhandenen Mischungsverhältnisse der beiden Heferassen. Ganz anders lag der Sachverhalt, als man aus den äußeren Erscheinungen schließen durfte. Es waren nach der zweiten Gärung allerdings nur 22 hochvergärende gegen 78 schwachvergärende Hefen vorhanden, und man hätte daraus den Schluß ziehen dürfen, daß bei dem folgenden Versuch noch weniger hochvergärende Hefen da sein müßten. Obgleich immer in derselben Weise der untere Teil der Hefeschicht zur Aussaat verwandt wurde, trat doch die hochvergärende immer mehr hervor und war nach der dritten Gärung schon der anderen an Zahl über. Anscheinend hatte sich ein ziemlich konstantes Verhältnis zwischen den beiden Hefen herausgebildet, welches unter dieser Art der Fortpflanzung und Gärführung vielleicht, wer weiß wie lange, angehalten hätte. Ein solcher Gleichgewichtszustand hat sicherlich wohl auch in der kleinen Brauerei bestanden, von welcher uns das Saatgut zugegangen war.

Ohne daß wir es gewollt hatten, waren wir mit dieser Gärführung in Geleise geraten, deren Bahnen zufälligerweise auf die Erhaltung eines Hefegemisches in annäherndem Verhältnis hinzuführen schienen. Uns war aber damit gar nicht gedient.

Umpumpen nach Rückgang der Kräusen.

Als wir erkannten, daß es auf diesem Wege nicht möglich war, der hochvergärenden Heferasse die Existenzbedingungen zu entziehen, nahmen wir zu einem andern Mittel unsere Zuflucht. Da es feststand, daß die niedrigvergärende Hefe Saaz sich eher setzt als die hochvergärende Hefe, wie wir das in eingehender Weise durch Hefenzählungen und an Beobachtungen in unserm Betriebe bei den Reinhefen des Saaztypus ermittelt haben, so pumpten wir nach Rückgang der Kräusen die Bottichbiere der Mischhefe um und stellten fortan nur mit dem Hefesatz an, welcher sich bis dahin gebildet hatte, während das umgepumpte Bier noch stehen blieb, bis es Bruch hatte.

Auch unterließen wir jetzt das Schlämmen, da es den von uns angestrebten Zwecken, wie wir erst später im Laboratorium zu beobachten Gelegenheit hatten, gerade zuwiderlief.

Beim Schlämmen wurden nämlich die Zellen der niedrigvergärenden Rasse trotz der größeren Klumpenbildung derselben in viel erheblicherem Grade fortgewaschen als die der wenig stark ballenden hochvergärenden Rasse, da sie keinen dichten, sondern einen großvoluminösen Bodensatz bilden und

beim Ablassen des Schlämmwassers leichter mitgerissen werden als die hochvergärende und dichter am Boden liegende Heferasse.

So hatten wir unbeabsichtigt bei den ersten Gärungen das Übergewicht, welches die schwachvergärende Rasse möglicherweise im Bottich bekommen hatte, durch eine falsche Behandlung beim Wässern wieder zum Teil in Frage gestellt.

Nach dem Umpumpen der Bottiche nach sechs- resp. siebentägiger Gärung wurde von dem Hefeschlämmen Abstand genommen. Der günstige Erfolg dieser geänderten Arbeitsweise sollte nicht lange auf sich warten lassen, denn schon nach dem drittmaligen Umpumpen hatte sich das Verhältnis der hoch- und niedrigvergärenden Rasse stark zu Gunsten der letzteren verschoben, und nach ein paar weiteren Gärungen war die hochvergärende vollständig verschwunden. Die niedrig vergärende hatte das Feld erobert und war auf natürlichem Wege zur Reinzucht geworden.

Gleich wie es in diesem Falle gelungen war, aus einem künstlichen Hefegemische zweier normaler untergäriger Brauereibetriebshefen die niedrig vergärende reinzuzüchten, so hat sich sicher die Praxis im Laufe von Jahrzehnten und Jahrhunderten die schwachvergärenden Hefen aus der großen Zahl der übrigen gärkräftigen und vermehrungsfähigeren Rassen auf natürlichem Wege selbst herangezüchtet, ehe an die von Hansen erfundene künstliche Auswahl der Einzelle zu denken war.

Für die Richtigkeit der von Delbrück aufgestellten Gesetze der natürlichen Reinzucht hat dieser Trennungsversuch von Saaz und Frohberg einen nicht unwesentlichen experimentellen Beitrag erbracht.

Trennung von hoch- und niedrigvergärenden untergärigen Hefen.

Ein Nachtrag zu dem in der dritten technischen Versammlung der Oktober-Tagung 1901 des Vereins Versuchs- und Lehranstalt für Brauerei gehaltenen gleichlautenden Vortrage.

(Wochenschrift für Brauerei, 1902.)

Von F. Schönfeld.

Zu Ergänzung des in der dritten technischen Sitzung der Oktober-Tagung des Vereins Versuchs- und Lehranstalt gehaltenen Vortrags über die „Trennung von hoch- und niedrigvergärenden untergärigen Brauereihefen durch geeignete Gärführung", in welchem nur die Gesamtergebnisse der angestellten Versuche in summarischer Zusammenfassung mitgeteilt werden konnten, sei jetzt noch eine tabellarische Zusammenstellung der einzelnen Versuche in ihren Zahlen-Ergebnissen und in der Reihenfolge der Versuchsanstellung nachgetragen, zu welcher kurz zu bemerken ist, daß die künstlich gemischte Hefe, wie aus der ersten vertikalen Rubrik der Tabelle zu entnehmen ist, neunmal durchgeführt wurde, und daß nach fünfmaligem Durchführen die Bottiche umgepumpt wurden und von da an nur der bei dem Umpumpen vorhandene Hefesatz zum Anstellen Verwendung fand.

Obgleich die umgepumpten Bottichbiere noch 5—6 Tage auf Gärung standen und die Vergärung beim Umpumpen eine abnorm niedrige war, so fand doch ein weiterer erheblicher Fortgang der Gärung nicht mehr statt, trotzdem noch sehr viel Hefen im Biere suspendiert waren (meistens noch die Hälfte der überhaupt nach der Beendigung des Hefewachstums vorhandenen Zellenzahl) und unter diesen, wenigstens nach dem erstmaligen und zweitmaligen Umpumpen, noch bedeutend mehr hochvergärende als niedrigvergärende Hefen vertreten waren. Betrug zuerst die Vergärung von dem Augenblick des Umpumpens bis zum Schlauchen noch 1,1 pCt. Blg., so fiel sie bei dem darauf folgenden Bottich schon auf 0,9 pCt. Blg. und

Laufende Nummer des Versuches	1	2			3	4
	Bezeichnung der untersuchten Hefe	Gärführung in der Brauerei				Extraktgehalt der Anstellwürze in der Brauerei
		Temperatur der Gärung in der Brauerei			Dauer der Gärung	
		angestellt mit	steigt bis	gekühlt bis		
		°R.	°R.	°R.	Tage	pCt. B.
	I. Bottich.					
1.	Das zum Versuch zusammengesetzte ursprüngliche Hefegemisch, entnommen nach dem Anstellen im Bottich (P)	5	7,5	3,4	14	12,60
	I. Bottich.					
2.	Von dem Biere vor dem Schlauchen entnommen	—	—	—	—	—
	I. Bottich.					
3.	Obere Hefeschicht von der Satzhefe nach dem Schlauchen des Bieres	—	—	—	—	—
	II. Bottich.					
4. P_1	Von der unteren Schicht der Satzhefe von Bottich I; nach dem Anstellen im Bottich II	5	7,5	3,4	14	12,70
	III. Bottich.					
5. P_2	Von der unteren Schicht der Satzhefe von Bottich II; nach dem Anstellen im Bottich III	5	7,5	3,4	14	12,25
	IV. Bottich.					
6. P_3	Von der unteren Schicht der Satzhefe von Bottich III; nach dem Anstellen im Bottich IV	5	7,5	3,4	7	12,65
	V. Bottich.					
7. P_4	Von der unteren Schicht der Satzhefe von Bottich IV; nach dem Anstellen im Bottich V	5	7,5	3,6	8	12,40
	VI. Bottich.					
8. P_5	Hefe wie vorher; vom Bottich V	5	7,5	6	6, dann umgepumpt	13,20

5	6	7	8	9	10	11
Extraktgehalt des Bieres beim Schlauchen	Endvergärung des Bieres aus dem Bottich	Anzahl der aus der Rollkultur ausgestochenen Kolonien	Von den Kolonien bestanden		Scheinbarer Vergärungsgrad	
			aus hochvergärenden	aus niedrigvergärenden	der hochvergärenden	der niedrigvergärenden
			Hefen		Hefen bei der Untersuchung im Laboratorium	
pCt. B.	pCt. B.				pCt.	pCt.
5,82	2,60	38	15	23	66,59	53,68
—	—	38	16	22	66,45	53,50
—	—	36	21	15	66,45	54,00
5,65	2,55	40	9	31	66,50	53,40
5,64	2,49	35	19	16	68,35	56,60
6,60	2,50	40	23	17	—	—
6,45	2,60	41	25	16	68,00	56,00
7,75 beim Umpumpen, 6,60 beim Schlauchen nach 12 Tagen	3,80	38	23	15	—	—

Laufende Nummer des Versuches	1	2			3	4
	Bezeichnung der untersuchten Hefe	Gärführung in der Brauerei				Extraktgehalt der Anstellwürze in der Brauerei
		Temperatur der Gärung in der Brauerei			Dauer der Gärung	
		angestellt mit	steigt bis	gekühlt bis		
		°R.	°R.	°R.	Tage	pCt. B.
	VII. Bottich.					
9. P_6	Hefe nach dem Umpumpen von Bottich VI	5	7,5	6,0	6, dann umgepumpt	12,65
	VIII. Bottich.					
10. P_7	Hefe nach dem Umpumpen von Bottich VII	5	7,5	5,5	6, dann umgepumpt	12,40
	IX. Bottich.					
11. P_8	Hefe nach dem Umpumpen von Bottich VIII	3	6,0	3,4	7, dann umgepumpt	12,90
	X. Bottich.					
12. P_8	Hefe nach dem Umpumpen von Bottich VIII	6	8,0	—	7, dann umgepumpt	12,90
	XI. Bottich.					
13. P_9	Hefe nach dem Umpumpen von Bottich IX	3	6,0	—	5, dann umgepumpt	11,60
	XII. Bottich.					
14. P_9	Hefe nach dem Umpumpen von Bottich X	6	8,0	—	5, dann umgepumpt	11,60

machte im späteren Verlaufe der folgenden Gärungen oft nicht mehr als 0,3—0,5 pCt. Bllg. aus.

Schon bei der ersten Gärung verschob sich das Hefegemisch, welches ursprünglich 60 pCt. niedrigvergärende Zellen enthielt (nämlich von 38 Kolonien 23) derartig, daß in dem oberen Schichtenteil des Hefebodensatzes nur 42 pCt., dagegen in der unteren Schicht 77 pCt. niedrigvergärende Zellen und in dem Biere vor dem Schlauchen 58 pCt. vertreten waren. Obgleich für die Fortführung der Hefe nur der untere Teil des Bodensatzes Verwendung fand, wurde doch der nach der ersten Gärung auf $^3/_4$ der gesamten Zellenzahl angewachsene Bestandteil an niedrigvergärenden Zellen von Gärung zu Gärung geringer, wie aus der neunten Vertikalreihe

5	6	7	8	9	10	11
Extraktgehalt des Bieres beim Schlauchen	Endvergärung des Bieres aus dem Bottich	Anzahl der aus der Rollkultur ausgestochenen Kolonien	Von den Kolonien bestanden		Scheinbarer Vergärungsgrad	
			aus hochvergärenden	aus niedrigvergärenden	der hochvergärenden	der niedrigvergärenden
			Hefen		Hefen bei der Untersuchung im Laboratorium	
pCt. B.	pCt. B.				pCt.	pCt.
7,8 beim Umpumpen, 6,9 „ Schlauchen	3,00	38	26	12	—	—
7,6 beim Umpumpen	3,25	40	4	36	72,80	62,30
9,2 beim Umpumpen, 8,85 „ Schlauchen	—	21	1	20	63,00	51,50
8,5 beim Umpumpen, 8,15 „ Schlauchen	—	40	4	36	63,00	51,50
7,65 beim Umpumpen, 7,15 „ Schlauchen	—	40	0	40	—	51,53
7,35 beim Umpumpen, 6,6 „ Schlauchen	—	39	0	39	—	51,53

der Tabelle auf Seite 121 ersichtlich ist, und betrug bei P_6 nur noch 32 pCt. Erst nach dem zweiten Umpumpen trat der Umschwung ein, welcher dann aber gleich so radikal einsetzte, daß sofort 90 pCt. der gesamten Hefezellen aus niedrigvergärenden bestanden und bei P_9 schon die letzte hochvergärende Zelle verschwunden war.

Um die Untersuchungen in jeder Weise einwandsfrei anzustellen, wurden jedesmal von der betreffenden Hefe etwa 40 Zellen isoliert, getrennt zur Vermehrung gebracht und von jeder der 40 Züchtungen Vergärungen angesetzt, aus deren Ergebnis dann die Zahl der hoch- resp. niedrigvergärenden Zellen der zur Untersuchung ausgewählten isolierten Hefen ermittelt wurden.

Der Unterschied in der Höhe des Vergärungsgrades zwischen den Hefen des Saaz-Typus und Frohberg-Typus ist so groß, daß aus dem Vergärungsgrad ohne weiteres auf die Zugehörigkeit zu einem der beiden Typen geschlossen werden kann; lehrt doch ein Blick auf die Tabelle, daß der Vergärungsgrad der niedrigvergärenden Hefen der sämtlichen Versuchsreihen 11—13 pCt. niedriger ist als der der hochvergärenden.

Da, wie vorhin schon angedeutet ist, neun Gärungen hintereinander fortgeführt werden mußten, ehe der erwünschte endgültige Erfolg vollständig gesichert war, so hatten die anzustellenden Versuche im Laboratorium einen ziemlich großen Umfang angenommen, und es waren mehr als 500 Hefen isoliert worden, welche sämtlich weitergezüchtet und hinsichtlich ihres Vergärungsgrades untersucht werden mußten — eine mühsame Arbeit, bei welcher die Herren Dr. König und Dr. Rommel in gleicherweise tatkräftig mitwirkten.

Vergleichende Betrachtungen über das Verhalten von Hefe Saaz und Frohberg bei der Hauptgärung in untergärigem Biere.

Von F. Schönfeld.

(Wochenschrift für Brauerei, 1902.)

Als in der Versuchs- und Lehrbrauerei einige dem Typus der niedrigvergärenden Gruppe der Saaz-Hefen angehörige Hefen versuchsweise Verwendung fanden, um auf ihre Brauchbarkeit zur Herstellung sehr niedrigvergorener Biere erprobt zu werden, was leider zu negativen Erfolgen führte, da sich herausstellte, daß die bei der Gärung zu Tage tretenden Eigenschaften hinsichtlich des von den Saaz-Hefen gebildeten Geruchs und Geschmacks und des ganzen äußeren Gärbildes in hohem Grade unbefriedigender Natur waren, suchten wir diese Gelegenheit zu benutzen, um das Verhalten der Saaz- und Frohberg-Hefen bei der Gärung auf etwaige, den Typus der hoch- und niedrigvergärenden Hefen charakterisierende Momente hin zu prüfen.

Da jedesmal zwei mit der Würze desselben Gebräus befüllte Bottiche mit einer hochvergärenden und einer niedrigvergärenden Hefe angestellt, die Hefen dreimal hintereinander in Parallel-Gärungen weitergeführt wurden, deren Bezeichnung in den Tabellen in zeitlicher Reihenfolge mit A, B, C angegeben ist, so konnten vom Referenten und Herrn Dr. König vor allem vergleichende Beobachtungen über die Vermehrungsfähigkeit der beiden Hefen angestellt werden, welche, wie aus den nachstehenden Tabellen ersichtlich ist, zu dem Ergebnis führten, daß die Saaz-Hefe eine erheblich geringere Vermehrungsfähigkeit besitzt als die Hefe Frohberg. Während diese sich im Verhältnis von 1 : 4,5 vermehrt, ist die Vermehrung bei ersterer nur 1 : 3 resp. 1 : 3, 2, soweit die in der Versuchsbrauerei üblichen Verhältnisse, welche übrigens in keiner Weise irgend welche Abweichungen von den sonst gebräuchlichen Gärmethoden aufweisen, in Betracht kommen. (Tabelle I—III.)

Tabelle I. **Gärung A.**

	Hochvergärende Hefe (S)			Niedrigvergärende Hefe (L)		
	Saccharometer-Prozente	Temperatur	Anzahl der Hefezellen in der Einheit (in 1/2000 Kubikmillimeter)	Saccharometer-Prozente	Temperatur	Anzahl der Hefezellen in der Einheit (in 1/2000 Kubikmillimeter)
Beim Anstellen	13,55 pCt. B.	5,0° R.	6,0	13,55 pCt. B.	5,0° R.	8,0
Nach 1tägiger Gärzeit	13,25 pCt. B.	5,4° R.	8,0	13,15 pCt. B.	5,6° R.	13,6
Nach 2tägiger Gärzeit	12,55 pCt. B.	6,0° R.	11,6	12,15 pCt. B.	6,2° R.	20,0
Nach 3tägiger Gärzeit	11,50 pCt. B.	7,2° R.	19,0	10,85 pCt. B.	7,2° R.	21,8
Nach 4tägiger Gärzeit	10,20 pCt. B.	7,4° R.	20,0	10,10 pCt. B.	7,0° R.	6,0
Nach 5tägiger Gärzeit	8,75 pCt. B	7,0° R.	21,4	—	—	—
Nach 6tägiger Gärzeit	7,55 pCt. B.	6,8° R.	15,4	—	—	—
Nach 14tägiger Gärzeit (beim Schlauchen)	5,84 pCt. B.	—	nicht gezählt, etwa 1,0	nach 10tägiger Gärzeit beim Schlauchen 9,10 pCt. B.	—	nicht gezählt, etwa 0,5
Absolute Zellenzahl nach Beendigung des Hefewachstums, unter Berücksichtigung des Hefe-Bodensatzes[1]	—	—	24,0	—	—	24,0

1) Außer den im Bier schwebenden Hefezellen wurden auch noch die auf dem Boden des Bottichs ruhenden Zellen gezählt, und zwar am Schluß der Gärung vor dem Schlauchen. Das geschah in der Weise, daß nach dem Anstellen der Würze mit Hefe in jeden Bottich zwei flache, steilwandige Glasschalen an einem Drahtgestell, welches an dem Bottichrand befestigt war, bis auf den Bottichboden herabgelassen, kurz vor dem Schlauchen herausgenommen und möglichst quantitativ in einen größeren Maßkolben gespült wurden, worauf nach nochmaliger, ziemlich weitgehender Verdünnung Zählungen gemacht wurden. Durch Umrechnung läßt sich ganz leicht ermitteln, wieviel Zellen in der Einheit des Bieres vorhanden sein müßten, wenn der ganze Satz von dem Bottichboden aufgerührt und gleichmäßig in dem Bier verteilt würde. Damit konnte eine Korrektur für die Zählungen, welche nur an den im Bier schwebenden Zellen gemacht wurden, welche aber diejenigen Zellen, welche sich schon zu Boden gesetzt hatten und der Probe-Entnahme entgangen waren, während der Zählung nicht berücksichtigten, gemacht und so der absolute Gehalt an Hefen, sowohl im Bier als im Satz, festgestellt werden.

Tabelle II. **Gärung B.**

	Hochvergärende Hefe (S)			Niedrigvergärende Hefe (L)		
	Saccharometer-Prozente	Temperatur	Anzahl der Hefezellen in der Einheit (in $^1/_{2000}$ Kubikmillimeter)	Saccharometer-Prozente	Temperatur	Anzahl der Hefezellen in der Einheit (in $^1/_{2000}$ Kubikmillimeter)
Beim Anstellen	13,45 pCt. B.	5,0° R.	4,0	13,45 pCt. B.	5,0° R.	6,8
Nach 1tägiger Gärzeit	13,22 pCt. B.	5,0° R.	5,0	13,15 pCt. B.	5,6° R.	8,0
Nach 2tägiger Gärzeit	12,55 pCt B.	5,8° R.	6,7	12,15 pCt. B.	6,2° R.	12,6
Nach 3tägiger Gärzeit	11,70 pCt. B.	6,5° R.	13,0	10,90 pCt. B.	7,1° R.	15,0
Nach 4tägiger Gärzeit	10,35 pCt. B.	7,2° R.	19,1	10,35 pCt. B	7,1° R.	5,4
Nach 5tägiger Gärzeit	9,05 pCt. B.	6,9° R.	18,2	—	—	—
Nach 6tägiger Gärzeit	7,70 pCt. B.	6,2° R.	15,7	—	—	—
Nach 14tägiger Gärzeit (beim Schlauchen)	5,00 pCt. B.	—	nicht gezählt, etwa 0,7	nach 10tägiger Gärzeit beim Schlauchen 8,75 pCt. B.	—	nicht gezählt, etwa 0,4

Tabelle III. **Gärung C.**

	Hochvergärende Hefe (S)			Niedrigvergärende Hefe (L)		
	Saccharometer-Prozente	Temperatur	Anzahl der Hefezellen in der Einheit (in $^1/_{2000}$ Kubikmillimeter)	Saccharometer-Prozente	Temperatur	Anzahl der Hefezellen in der Einheit (in $^1/_{2000}$ Kubikmillimeter)
Beim Anstellen	12,48 pCt. B.	5,0° R.	4,7	12,48 pCt. B.	5,0° R.	7,0
Nach 1tägiger Gärzeit	12,22 pCt. B.	5,4° R.	6,6	12,10 pCt. B.	5,6° R.	12,0
Nach 2tägiger Gärzeit	—	6,6° R.	11,4	—	6,9° R.	19,0
Nach 3tägiger Gärzeit	10,35 pCt. B.	7,2° R.	16,0	9,40 pCt. B.	7,1° R.	15,0
Nach 4tägiger Gärzeit	8,80 pCt. B.	7,3° R.	18,0	8,70 pCt. B.	7,3° R.	2,0
Nach 5tägiger Gärzeit	7,35 pCt. B.	6,6° R.	19,0	—	—	—
Nach 6tägiger Gärzeit	6,30 pCt. B.	6,0° R.	16,0	—	—	—
Nach 14tägiger Gärzeit (beim Schlauchen)	4,55 pCt. B.	3,0° R.	nicht gezählt, etwa 0,7	nach 10tägiger Gärzeit beim Schlauchen 6,9 pCt. B.	3,0° R.	nicht gezählt, etwa 0,2
Absolute Zellenzahl nach Beendigung des Hefewachstums, unter Berücksichtigung des Bodensatzes	—	—	22,0	—	—	23,0

Die Periode des Hefewachstums bei der Hefe Saaz ist von viel kürzerer Dauer als die der Hefe Frohberg; denn sie währt nur drei Tage gegenüber fünf Tagen der Frohberg-Hefe. Entsprechend der kürzeren Zeit, wird auch von der Saaz-Hefe in diesen drei Tagen der Hefevermehrung weniger Extrakt vergoren als von der Hefe Frohberg in den fünf Tagen ihres Wachstums. In vorstehenden Versuchen waren es 2,5 pCt. bis 3 pCt. B. gegenüber 4,8 pCt. bis 5,4 pCt. B. der hochvergärenden Hefe. (Tabelle IV.)

Hinsichtlich dieser letzteren muß indes die Einschränkung gemacht werden, daß, wenn sie auch dem Typus der Frohberg-Hefen zuzuzählen ist, in der Brauerei, besonders gelegentlich der Parallelversuche zwischen dieser und der Hefe vom Saaz-Typus, nur eine mittlere Vergärung bei der Hauptgärung von 57 pCt. bis 63 pCt. zeigte und durchaus nicht wirklich hoch vergärende Eigenschaften entwickelte.

Tabelle IV.

	Von der niedrig vergärenden Hefe wurden während des Hefewachstums vergoren	Von der hoch vergärenden Hefe wurden während des Hefewachstums vergoren
bei Gärung A	2,70 pCt. B.	4,80 pCt. B.
bei Gärung B	2,55 pCt. B.	5,40 pCt. B.
bei Gärung C	3,08 pCt. B.	5,10 pCt. B.

Tabelle V.

	Von der niedrig vergärenden Hefe wurden in den drei ersten Tagen vergoren	Von der hoch vergärenden Hefe wurden in den drei ersten Tagen vergoren
bei Gärung A	2,70 pCt. B.	2,05 pCt. B.
bei Gärung B	2,55 pCt. B.	1,75 pCt. B.
bei Gärung C	3,08 pCt. B.	2,13 pCt. B.

Die Hefe Saaz entwickelt eine viel größere Gärintensität bei der Angärung als die Hefe Frohberg, büßt aber diese Überlegenheit schon nach der Beendigung des Wachstums wieder ein. In den drei ersten Tagen, in der Periode des Wachstums, vermag die Hefe Saaz 2,5 pCt. bis 3,0 pCt. zu vergären, die Hefe Frohberg dagegen nur 1,7 pCt. bis 2,1 pCt. in derselben Zeit. (Tabelle V.)

In Zusammenhang damit steht auch die größere Wärmeproduktion bei der Angärung der Hefe Saaz, so daß die mit Saaz angestellten Bottiche schnellere Temperatursteigerung zeigen als die mit Frohberg angestellten. Indes kommt diese schnellere Temperatursteigerung bald zum Stillstand und erreicht nicht die Höhe der von der Hefe Frohberg produzierten Wärme. Bei den Parallelversuchen blieb die Temperatur der mit 5° R. angestellten Bottiche im höchsten Stadium der Gärintensität bei der Hefe Saaz auf 7,3° R. stehen und fiel von selbst wieder, während sie bei der Frohberg-Hefe bis über 8° R. stieg, gewöhnlich aber schon bei 7,3° R. durch Kaltwasserkühlung heruntergedrückt wurde. Auch fallen die Kräusen des mit Hefe Saaz vergorenen Bieres sofort nach Erreichung des Wachstumsabschlusses in sich zusammen, und es beginnen sich die Zellen sofort zusammenzuballen und zu Boden zu fallen, so daß sich schon am vierten Tage der Gärung 70 pCt., ja manchmal sogar schon 80—90 pCt. der Hefezellen am Boden des Bottichs abgesetzt haben.

Durch dieses schnelle Absetzen mußte es auch möglich sein, die niedrig vergärende von der hoch vergärenden Hefe, von welcher bei unseren Versuchen am vierten Tage sich erst einige wenige Prozente gesetzt hatten, zu trennen.

Wenn die Angärung der Saaz-Hefe eine intensivere ist als die der Frohberg-Hefe, so hat das auch zum Teil seinen Grund in der beim Anstellen vorhandenen größeren Zellenzahl, welche, obgleich von jeder Hefe ein gleich großes Raummaß zur Verwendung kommt, die der Frohberg-Hefe erheblich übersteigt und in vorstehenden Versuchen rund 50 pCt. höher und darum schon eine kräftigere Gärwirkung auszuüben imstande war. Ob diesem Faktor aber eine größere Rolle zufällt als etwa dem Umstande, daß die zymatischen Kräfte der Saaz-Hefe am Anfang der Gärung schneller und ausgiebiger in Aktion treten als bei der Frohberg-Hefe, mag dahingestellt bleiben.

Daß die Zellen der Saaz-Hefe bedeutend kleiner sind als die der Frohberg-Hefe, lehrt nicht nur ein Blick durch das Mikroskop, sondern zeigt sich auch darin, daß nach dem Hefegeben beim Anstellen trotz gleich großer Hefegabe eine Zählung in der frisch angestellten Würze bedeutend mehr Zellen bei dem mit der Hefe Saaz angestellten Bottich ergab als bei dem mit Frohberg angestellten So waren z. B. (Gärung A) im gleichen Raumteil von ersterer 8, von letzterer 6 Zellen, in einem anderen Falle (Gärung B) von ersterer 6, von letzterer nur 4 Zellen vorhanden. Zieht man außerdem noch in Betracht, daß sich die Hefe Saaz nicht so dicht und fest absetzt wie die hochvergärende, so würde sich das Verhältnis der Zellenzahl bei Saaz und Frohberg noch mehr verschieben, wenn beide sich gleich dicht absetzen würden, und es wären die Zellen der Saaz-Hefe noch mehr in der Überhand.

Auch in Bezug auf die Gestalt weicht die Saaz-Hefe bedeutend von

der hochvergärenden ab. Sie ist nicht nur kleiner, sondern auch bedeutend ungleichmäßiger in Größe und Form und erweckt bei der Betrachtung unter dem Mikroskop den Anschein, als ob sie durch ungünstige klimatische Verhältnisse, schlechte und mangelhafte Ernährung bei dem Wachstum in der Bottichwürze, in der Ausbildung zurückgeblieben ist. Denn vielfach finden sich auch noch zu zwei zusammenhängende Zellen ungleicher Größe, von welchen die eine nur halb ausgewachsen ist. Es wurde versucht, durch Auszählung der Verbände einen annähernden zahlenmäßigen Ausdruck für das Verhältnis von einzeln vorkommenden und zusammenhängenden Hefezellen im Bodensatz nach beendigter Hauptgärung zu finden, und da haben dann die vergleichenden Zählungen ergeben, daß

bei der niedrig vergärenden Hefe Saaz

a) von 66 Zellen 32 Zellen in Verbänden zu 2 Zellen, oder 50 pCt. der Zellen als Verbände,

b) von 68 Zellen 20 Zellen in Verbänden zu 2 Zellen, oder 30 pCt. der Zellen als Verbände,

c) von 110 Zellen 40 Zellen in Verbänden zu 2 Zellen, oder 36 pCt. der Zellen als Verbände,

d) von 96 Zellen 34 Zellen in Verbänden zu 2 Zellen, oder 35 pCt. vorhanden waren,

bei der hoch vergärenden Hefe dagegen:

a) von 84 Zellen 8 Zellen in Verbänden zu 2 Zellen, oder etwa 10 pCt. der Zellen als Verbände,

b) von 63 Zellen 18 Zellen in Verbänden zu 2 Zellen, oder etwa 30 pCt. der Zellen als Verbände,

c) von 87 Zellen 14 Zellen in Verbänden zu 2 Zellen, oder etwa 16 pCt. der Zellen als Verbände

vorkamen, was im Durchschnitt bei der niedrigvergärenden Hefe 38 pCt., bei der hochvergärenden dagegen nur 19 pCt. Zellenpaare ausmacht.

Gerade diese Abweichungen in der Fom und Größe und in dem Zusammenhang der Zellen im Bodensatz nach vollendeter Hauptgärung bilden ein hervorstechendes Merkmal der Hefen vom Typus Saaz und kennzeichnen sie allgemein, soweit es uns möglich war, Hefen dieser Gruppe überhaupt im praktischen Betriebe zu erproben und zu beobachten.

Auch die Eigenschaft weniger dichten und fest liegenden, als vielmehr etwas locker-voluminösen Bodensatz zu bilden, ist ihnen durchgehends eigen, trotzdem sie in viel höherem Maße die Eigenschaft haben, sich schnell zusammen zu ballen, große Flocken zu bilden und schnell zu Boden zu gehen als die Hefen des hochvergärenden Typus Frohberg.

Wenn alle im vorstehenden hervorgehobenen Momente, ebenso wie die schon in früheren Aufsätzen[1]) besprochenen Merkmale, z. B. schlechte und

1) Wochenschrift für Brauerei 1899, Seite 177 u. ff.; 1900, Seite 313 u. ff.

niedrige Kräusenbildung, großblasige, lockere Deckenbildung, Erzeugung unangenehmen Geruches bei der Gärung, schließlich unangenehme Geruchs- und Geschmacksbildung im fertigen Biere, die Hefen vom Typus Saaz zu charakterisieren imstande sind, so war doch aus dem Stickstoff-Assimilationsvermögen der Hefen bei der Gärung kein beide Typen unterscheidendes Merkmal herauszufinden. Denn bei jeder der zwei Parallel-Gärungen (A und C) waren bei beiden Bieren jedesmal die gleichen Mengen Stickstoff herausgenommen und auch in der Höhe des Stickstoffgehalts der getrockneten Hefen Saaz und Frohberg keine Unterscheidungsmerkmale für die beiden Hefentypen erkenntlich. (Tabelle VI und VII.)

Tabelle VI.

	Gesamt-Stickstoff in 100 ccm Würze	Gesamtstickstoff in 100 ccm	
		des mit der Saaz-Hefe vergorenen Bottichbieres	des mit der Frohberg-Hefe vergorenen Bottichbieres
Bei Gärung A	0,088 g	0,069 g	0,069 g
Bei Gärung C	0,113 g	0,085 g	0,084 g

Tabelle VII.

	Stickstoffgehalt der niedrigvergärenden Hefe	Stickstoffgehalt der hochvergärenden Hefe
Bei Gärung A	10,42 pCt.	10,72 pCt.
Bei Gärung B	—	10,91 pCt.
Bei Gärung C	10,78 pCt.	10,89 pCt.

Trennung von Brennereihefrassen auf dem Wege der natürlichen Reinzucht.

In der Hefenzuchtanstalt des Vereins der Spiritus-Fabrikanten in Deutschland werden für Kartoffelbrennerei zwei Hefrassen hergestellt, die mit Rasse II und Rasse XII bezeichnet werden. Rasse II ist die jahrelang mit größtem Erfolge an die dickmaischenden Brennereien abgegebene Hefrasse, die aber gleichzeitig die unangenehme Eigenschaft hatte, Schaumgärung zu erregen. Die Hefe mußte deshalb, um brauchbar zu werden, in einen bestimmten physiologischen Zustand versetzt werden, und dies geschah durch Verwendung sehr konzentrierter Hefemaischen, welche man sehr hoch vergären ließ. Der sich ansammelnde Alkohol brachte die Hefe aus dem Schaum erzeugenden geilen Zustand in den ruhige Gärung gebenden trägen. Voller Erfolg wurde aber nur erzielt, wenn gleichzeitig die Maische mit großer Vorsicht bereitet war. Vielfach mußte das Hefesche Verfahren eingeschlagen werden: einen Teil des Malzes der Maische nach der Abkühlung zuzusetzen.

Die Rasse XII hat nun die Rasse II fast vollständig verdrängt, weil sie in intensiver Gärung der Rasse II gleichwertig ist und nicht zur Schaumbildung neigt.

Man hat nun in der Praxis häufig beobachtet, daß eine nicht Schaum erzeugende Hefe bei längerer Führung Schaum erzeugend wird; dies könnte dadurch erklärt werden, daß die Rasse II bei Verwendung einer Mischhefe allmählich die Rasse XII verdrängt. Es war deshalb durch Versuche festzustellen, ob sich Rasse II und XII auf dem Wege der natürlichen Reinzucht voneinander scheiden lassen. Daß dies möglich ist und nach dem Triebverfahren auf das leichteste durchgeführt ist, zeigt nachstehende Arbeit:

Trennung von Rasse II und Rasse XII auf dem Wege der natürlichen Reinzucht.

Von W. Henneberg.

Die Vorbedingung für diese Versuche war, daß ein sicheres Unterscheiden dieser beiden Hefrassen möglich ist. Wie aus der Beschreibung in der Zeitschr. f. Spiritusindustrie 1903 Nr. 9 zu ersehen ist, sind die wichtigsten

Unterscheidungsmerkmale in der Form der Sproßverbände und in der Form der Gelatinekolonien gefunden worden: Rasse II bildet keine zusammenhängenden Sproßverbände und einfach glatte Kolonien; Rasse XII dagegen hat fest zusammenhängende Sproßverbände und durch radiäre und konzentrische Furchen und Rippen gegliederte Kolonien. Beide Merkmale benutzte ich in den folgenden Versuchen, indem ich mit Hilfe der Tröpfchenkultur und der Gelatineplatte die Rasse der vorliegenden Hefe feststellte.

Es wurden zunächst **Versuche in der Fabrik** mit dem Gemische beider Rassen angestellt. Durch längeres Führen dieser Mischhefe in verschiedenen Maischen konnte möglicherweise die eine Rasse allein zur Herrschaft gelangen.

Zur Anwendung kam zunächst Roggen-Malzmaische:

Die Maische I hatte 19° Blg. und 0,6% Milchsäure.

Ergebnis: Bei der 15. Führung nach $1^1/_2$ Monaten war das Zahlenverhältnis: 1 Rasse II : 31 Rasse XII.

Die Maische II hatte 24° Blg. und 1,2% Milchsäure.

Ergebnis: Bei der 15. Führung genau wie bei der vorigen Maische: 1 Rasse II : 31 Rasse XII.

Bei der 23. Führung nach 2 Monaten: 1 Rasse II: 85 Rasse XII.

In der Getreidemaische siegt also in beiden Fällen Rasse XII, wenn auch die Verdrängung der anderen Rasse nur langsam stattfindet.

Auch mit Kartoffelmaische wurden in der Fabrik Versuche angestellt:

Kartoffelmaische I hatte 20,4° Blg. und 0,6% Milchsäure.

Ergebnis: Bei der 9. Führung nach 10 Tagen war das Zahlenverhältnis: 1 Rasse II : 1 Rasse XII.

Kartoffelmaische II hatte 20,4° Blg. und 1,2% Milchsäure.

Ergebnis: Bei der 9. Führung: 1 Rasse II : 2,5 Rasse XII und bei der 16. Führung (21. Tag): 1 Rasse II: 5 Rasse XII.

Die Versuche in der Fabrik mußten unterbrochen werden, da das Erkennen der Rassen entweder durch Infektion oder durch Variation unmöglich wurde.

Laboratoriums-Versuche.

Kartoffelmaische mit 1,3% Milchsäure wurde sterilisiert und mit möglichst gleicher Menge von Rasse II und Rasse XII geimpft.

Nach 17. Führung (25 Tagen) 4 Rasse II : 1 Rasse XII.

Eine zweite Kartoffelmaische wurde bisher 8mal mit derselben Hefe geimpft:

Kartoffelmaische I hatte 0,6 % Milchsäure:
bei der 8. Führung 12 Rasse II : 1 Rasse XII.
Kartoffelmaische II hatte 1,2 % Milchsäure:
bei der 8. Führung 1 Rasse II : 1 Rasse XII.

Die Versuche werden noch weiter fortgesetzt.

Eine Würze von 21° Blg. erhielt einen Zusatz von 0,6 % Milchsäure, eine zweite 1 % Milchsäure.

Würze mit 0,6 % Milchsäure:
27. Führung 13 Rasse II : 1 Rasse XII
43. „ ($2^3/_4$ Monate). Nur Rasse II ist nachzuweisen.

Würze mit 1 % Milchsäure:
27. Führung: 63 Rasse II : 1 Rasse XII
43. „ : Nur Rasse II ist nachzuweisen.

Es sind augenblicklich Untersuchungen angestellt, die die Variation der Heferassen feststellen sollen. Es wäre ja nicht unmöglich, daß die Rasse XII in den letzten Versuchen die äußeren Merkmale der Rasse II unter bestimmten Bedingungen annimmt.

In den bisherigen Versuchen wurde stets vor der Übertragung der Hefe von einem Gefäß in ein anderes die Flüssigkeit gut umgeschüttelt. Bei den folgenden Versuchen wurde nicht geschüttelt, sondern vorsichtig ein Teil des Schaumes mit einer sterilen Glasröhre abgenommen und zur Weiterimpfung benutzt.

Es mag hier bemerkt sein, daß zu den Merkmalen von Rasse II die Bildung eines sehr hefigen Schaumes auf den gärenden Flüssigkeiten gehört, während Rasse XII nur wenig Hefe im Schaum zeigt.

Das Ergebnis von 6 Versuchsreihen war, daß schon nach 1- bis 2maliger Überimpfung Rasse II in der Hauptmenge, und nach der 4. bis 7. Überimpfung fast allein noch vorhanden war.

Auf letzterem Wege gelingt demnach die Trennung sehr leicht.

Die Kampfenzyme.

Von

M. Delbrück.

(Wochenschrift f. Brauerei, 1903.)

Bei technischen Gärungen konkurrieren, auch wenn man mit Reinzuchten arbeitet, immer sowohl Heferassen miteinander, als auch Heferassen gegen Spaltpilze aller Art. Ich habe nachgewiesen, daß Heferassen die Eigenschaft haben, konkurrierende Gegner aus den Hefen in der Entwicklung zu hemmen, ja sie aus einer Züchtungsflüssigkeit vollständig zu vertreiben, die Gegner bis auf die letzte Zelle zu vernichten. Die Beobachtung dieser Tatsache gab mir ja das Recht, von natürlicher Reinzucht zu sprechen, während ich dieser entgegenstellte das Gebiet der künstlichen Reinzucht, welche arbeitet mit Hilfe der Asepsis und der nach den neueren Methoden zu bewirkenden Auswahl einzelner Zellen als Grundlage der Reinkultur. Die Fähigkeit eines Organismus, den anderen aus einer Zuchtflüssigkeit zu verdrängen, erkannte ich unter anderem darin, daß die Erzeugnisse, welche die Pilze hervorbringen, für diese Gegner giftig sind. Die Hefe erzeugt den Alkohol und die Kohlensäure, und beide erwiesen sich als heftige Gifte des Milchsäurepilzes und des Buttersäurepilzes, überhaupt aller Spaltpilze, welche nicht etwa unter besonderen Umständen den Alkohol selbst als Nahrungsmittel nehmen. Indem die Hefe also stark Gärung erregt, rüstet sie sich zum Kampf und sendet in den freigemachten Molekülen von Alkohol und Kohlensäure die Gegner vernichtenden Geschosse aus. Ähnlich ist zu betrachten das Erzeugnis des Milchsäurepilzes; denn die Milchsäure ist das heftigste Gift für den Buttersäurepilz, und daher die großartige Wirkung, wenn Hefe- und Milchsäurepilz zusammenarbeiten, indem dann der Giftwirkung des Alkohols und der Kohlensäure sich die Giftwirkungen der Milchsäure gesellen, so daß die beiden imstande sind, den gemeinsamen Gegner, den Buttersäurepilz, zu zerstören. Aber auch der Buttersäurepilz ist nicht ohne Waffen. Nach den älteren Arbeiten von Maercker und Neale zeigte sich die Buttersäure, schon immer in den

Gärungsgewerben gefürchtet, als ein starkes Gift für die Hefe. Von diesen Tatsachen ausgehend, gewinnt die Lehre von der Bedeutung der Enzyme im Hefeleben ein besonderes Gesicht. Wir kennen die Enzyme als Verdauungsenzyme, und zu ihnen gehören die Diastasen, die Peptasen, die Lipasen, dazu kommen die Kraftenzyme, und zu diesen gehört die Oxydase und die Zymase. Indem nunmehr die Gärwirkung nachgewiesen ist in ihrem Nutzen für die Hefe als ein Mittel, die Gärflüssigkeit von anderen Pilzen rein zu halten, kann man die Zymase auch rechnen zu den Kampfenzymen. Und ebenso ist aufzufassen das Enzym des Milchsäurepilzes und nicht anders das Enzym des Essigsäurepilzes, denn die Essigsäure ist ja ein Konservierungsmittel allerersten Ranges. Hat der Essigsäurepilz eine genügende Menge von Essigsäure hervorgebracht, so ist er der Alleinherrscher in seiner Züchtungsflüssigkeit.

Es fragt sich aber, ob diesen als Gärenzym von den Pilzen hervorgebrachten Stoffen nicht noch andere als Kampfenzyme zuzugesellen sind. Ich meine, das muß wohl geschehen. Folgende Betrachtung mag hierzu den Beweis liefern.

Man kann durch Alkohol, den man einer Gärflüssigkeit zufügt, oder durch Kohlensäure, mit der man eine Gärflüssigkeit imprägniert, die Entwicklung bestimmter Pilze verhindern. Man kann durch Zusatz ausreichender Mengen Milchsäure das Aufkommen von Buttersäurepilzen in Maischen ausschließen. Aber viel wirkungsvoller als der Zusatz solcher Stoffe ist die Einführung der Pilze als Kampforganismen selbst. Wenn nun eine Flüssigkeit, in welcher der Buttersäurepilz, indem er die Buttersäure erzeugt, lebt, sich als für die Hefe viel giftiger erweist als eine Flüssigkeit, zu welcher ein entsprechendes Quantum Buttersäure als chemischer Stoff hinzugefügt ist, so geht daraus hervor, daß der Buttersäurepilz noch andere für die Hefe schädliche Stoffe als Buttersäure hervorbringt; der lebendige, wirkende Buttersäurepilz ist das wesentlich Giftige für die Hefe. Dann wird man annehmen müssen, daß die Gesamtumsatzstoffe, welche der Buttersäurepilz bei seinem Leben hervorbringt, die schädigende Wirkung auf die Hefe zuwege bringen. Und wenn man dann ferner annimmt, daß das Gesamtleben und -Wirken der Pilze für jede Art chemischer Arbeit schließlich auf die Wirkung entsprechender Enzyme zurückzuführen ist, dann ist der weitere Schluß gerechtfertigt, daß Kampfenzyme verschiedenster Art in den Pilzen vorhanden sein müssen. — Diese Auffassung ist dem Gärungstechniker eine geläufige. Ich möchte annehmen, daß sie eine selbstverständliche ist für den Physiologen, welcher die Krankheitserreger studiert. Längst ist die Auffassung Allgemeingut, daß nicht der Cholerapilz an sich eine Giftwirkung hervorbringt, sondern daß er giftige Stoffe erzeugt, die entweder Enzyme sind oder von solchen hervorgebracht werden. Und ebenso liegt es bei anderen Krankheitserregern. Ich habe mich über diese Frage in einem Vortrage ausgesprochen, welchen ich in

Düsseldorf im Jahre 1902 im Verein Deutscher Chemiker gehalten habe, der auch in der „Tageszeitung für Brauerei" und im „Jahrbuch des Vereins der Spiritus-Fabrikanten in Deutschland, Jahrg. 1903, zum Abdruck gekommen ist. Bekannt ist die Tatsache, daß ein mit einem Krankheit erregenden Pilz infizierter Organismus Gegengifte hervorbringt, welche den infizierenden Pilz bekämpfen, und diese Gegengifte, diese Antikörper, rechnet man z. T. ebenfalls zu den Enzymen. Mit Enzymen arbeitet der Krankheitserreger, und der von ihm befallene Körper antwortet seinerseits mit der Entwicklung besonderer auf den Gegner eingestellter Gegenkampfenzyme. Die Fähigkeit des Blutes der höheren Tiere in der Hervorbringung solcher Antikörper ist ja eine außerordentlich vielgestaltige, und auf jedes zerstörungdrohende Eindringen fremder Organismen, wie ihrer Enzyme, oder von ihnen erzeugter schädlicher Stoffe wird die Antwort durch die Bildung von Antikörpern gegeben. Darin beruht die Schutzimpfung.

Wollen wir eine entsprechende Anwendung auf die Gärungstechnik machen, so wird man den Nachweis verlangen müssen, daß z. B. die Hefe auf die Infektion mit einem feindlichen Pilz durch die Hervorbringung geeigneter Antikörper antwortet. Eine solche Tatsache festzustellen, ist nun noch nicht gelungen; aber man muß doch daran erinnern, daß der Weg zur Behandlung dieser Frage schon gegeben ist. Jedenfalls wird die Hefe zur Kampfestätigkeit mächtig angeregt durch die Reizung, welche auf sie von gegnerischen Pilzen durch von diesen erzeugte Giftstoffe ausgeübt wird. Schon Hayduck zeigte, daß die Buttersäure die Hefe zu starker Gärwirkung anregt, und meinte, vielleicht daraus schließen zu können, daß die Buttersäure nicht immer als schädigend für die Hefe anzusehen sei. Diese Beobachtung wird uns in ihrer allgemeinen Bedeutung nun klar; denn die stärkere Gärwirkung der Hefe auf Reizung durch Buttersäure ist eben die Gegenwirkung der Hefe gegen die von der Buttersäure ausgehende Bedrohung. Das hat H. Lange und mich dazu gebracht, zu versuchen, ob man nicht den Buttersäurepilz und die Buttersäure in gleicher Weise schließlich zur Hefezüchtung und Reinhaltung der Hefe benutzen kann, wie es schon mit der Milchsäure gelungen ist; und in der Tat zeigte sich, daß eine durch Zusatz von Buttersäure zur lebhaften Gärwirkung angeregte Hefe sich reiner von infizierenden Pilzen hält als eine lediglich in einer Milchsäurezuchtflüssigkeit entwickelte.

Andere Kampfenzyme gehören zu den Peptasen, und hier ist es wieder die Lehre von der Immunität, welche uns die Tatsachen herbeigeschafft hat. Es ist bekannt, daß das Blut als Antikörper Stoffe hervorbringt, welche einen Krankheit erregenden Pilz dadurch vernichten, daß sie diesen Pilz auflösen. Wenn diese Pilze aus Eiweißstoffen bestehen, so können die Kampfenzyme nur unter Peptasen gesucht werden. Da nun die Pilzorganismen, insbesondere die Hefen, mit außerordentlich starken peptatischen Kräften ausgerüstet sind, so kann man wohl zu der Annahme kommen, daß

die Peptase nicht bloß als Verdauungsenzym, sondern auch als Kampfenzym aufzufassen ist.

Es gibt auch Antikörper, die den Gegner durch „Konglutinieren" unschädlich machen, indem sie Pilze zur Zooglöabildung führen, d. h. ihn zum Zusammenballen bringen oder giftige Stoffe durch Koagulieren außer Kurs setzen. Der Pilz ist durch das Konglutinieren an der Ausbreitung gehindert und verliert so seine Giftwirkung. Ähnliches kennen wir aus der Gärungstechnik; Lindner zeigte, wie gefährlich es ist, die Sarcina aus der Zooglöa-Ruhe aufzustören, und Schönfeld vom Institut für Gärungsgewerbe hat für die Bierkrankheiten erregenden Pilze den Begriff der Virulenz eingeführt. Die Sarcina gilt als einer der unangenehmsten, am schwersten zu bekämpfenden Spaltpilze bei der Bierbereitung; aber er ist der Hauptsache nach nur dann schädlich, wenn er sich in feiner Verteilung in Einzelorganismen durch die gesamte Gärflüssigkeit verbreitet, während er in größeren Klümpchen vereinigt ein verhältnismäßig unschädliches Dasein führt und insbesondere verhindert ist, die unangenehme Trübung im Bier hervorzubringen. Lindner hat darauf hingewiesen, daß bei allzu sorgsamer Reinigungsbehandlung der Bierhefe gelegentlich sehr schädliche Wirkungen zu Tage kommen, weil konglutinierte Nester von Sarcinen dadurch zur Auflösung und zum Ausschwärmen gebracht werden. Nach neueren Untersuchungen besitzt die Hefe aber auch koagulierende Enzyme, wenn als solche die der Casease, welche die Milch zum Gerinnen bringt, aufzufassen ist.

Experimentell würde die Frage in der Weise zu behandeln sein, daß man die verschiedenen Hefenrassen, vergleichend auf ihre Fähigkeit, bestimmte Bakterien zu bekämpfen, untersucht. Man wird dann vielleicht festzustellen haben, daß einige Heferassen ihre Gegner peptatisch bekämpfen, indem sie Bakterien auflösen, daß andere ihre Gegner konglutinierend bekämpfen, indem sie sie zum Zusammenballen bringen.

Dieses ganze Gebiet der Kampfenzyme läßt sich nun weit ausspinnen. Ich beschränke mich darauf, auf die zahllosen Umsatzstoffe, welche die verschiedenen Pilzorganismen hervorbringen, hinzuweisen, von denen aus der Hefengruppe nur einige hier angeführt werden mögen. Die Hefen erzeugen neben dem Alkohol und der Kohlensäure

1. höhere Alkohole und Glyzerin,
2. Aldehyde,
3. kleine Mengen flüchtiger Säuren (Ameisensäure, Essigsäure),
4. nichtflüchtige Säuren (Bernsteinsäure),
5. Säureäther (Essigäther, Ameisensäureäther),
6. Schwefelwasserstoff,
7. Eiweißumsatzstoffe.

Alle diese Stoffe würden daraufhin zu untersuchen sein, ob sie als Kampfstoffe dienen können; und die Untersuchung würde ferner dahin zu

richten sein, ob bestimmte dieser Umsatzstoffe nur von den Hefen auf Reizung durch gewisse Bakterien oder bestimmte, von solchen Bakterien erzeugte Stoffe in besonderer Menge hervorgebracht werden. Eine Unterfrage würde schließlich darin liegen, festzustellen, ob die verschiedenen hier aufgeführten Umsatzstoffe etwa durch für den bestimmten Kampfzweck gebildete Enzyme hervorgerufen werden.

Wortmann hat neuerdings in sehr glücklicher Weise die biologische Bedeutung der Gärwirkung für die Hefe hervorgehoben, und zwar in dem Sinne, daß der Nutzen der Gärwirkung für die Hefe in der Erzeugung von Kampfmitteln gegen Gegner zu suchen sei. In der Litteratur ist merkwürdigerweise diese Wortmannsche Auffassung als neu hingestellt worden. Für die Leser unserer Zeitschriften ist es aber wohl kaum notwendig, darauf hinzuweisen, daß diese Auffassung für die Arbeiten des Instituts für Gärungsgewerbe eine grundlegende seit mehr denn einem Jahrzehnt gewesen ist. Die ganze Lehre von der natürlichen Reinzucht beruht ja auf ihr, und Lindner hat speziell („Wochenschr. f. Brauerei", Jahrg. 1900, S. 173) darauf hingewiesen, daß sogar tote Hefezellen, wenn sie nur noch die Zymase enthalten, überlebenden Genossen eine Hilfe sein können, indem sie durch Bildung von Alkohol und Kohlensäure das Züchtungsfeld von gegnerischen Pilzen freihalten.

Merkwürdig ist, daß in der Natur frei lebende Hefen, die Wein- und Fruchthefen, speziell Ester erzeugende sind. Man könnte annehmen, daß die Kulturhefen in gewissem Sinne abgeschwächte Organismen sind, sie finden schon einen Schutz in dem für sie von dem Züchter passend hergestellten Züchtungsmedium; anders die „wilden" Hefen. Sie sind auf sich allein im Kampf ums Dasein angewiesen. Vielleicht bilden die Ester ein besonders kräftiges Kampfmittel.

Die Bedeutung der Kohlensäure als Kampfmittel wächst noch, wenn man sich daran erinnert, daß sie das Bewegungsmittel für die Hefe ist, so daß sie verteilt in der Gärungsflüssigkeit überall den Kampf aufnehmen kann.

Gesamt-Ergebnisse.

A. Natürliche Reinzucht; allgemeine Gesetze.

1. Allen den Seite 6 angeführten Lebensverhältnissen gegenüber sind die verschiedenen Heferassen durchaus nicht gleich, sondern verschieden. Die Folge davon ist, daß bei gleichmäßiger Aussaat verschiedener Heferassen die eine die andere unterdrückt, wenn für sie die Lebensverhältnisse günstiger sind.

2. Zunächst der Kampf um die Nahrungsmittel:

Die Heferasse mit den stärksten diastatischen Enzymen unterdrückt die anderen, diejenige mit schwächeren bleibt zurück. Diejenige Hefe, welche ein auf ein bestimmtes Kohlehydrat eingestelltes Enzym besitzt, unterdrückt die anderen.

Die stärksten Brauereihefen sind in Milch (Milchzucker) schwach.

Die Weinhefe, nur Traubenzucker vergärend, geht in Bierwürzen zu Grunde.

In gekochten, diastasefreien Malzwürzen ist die Kraftfolge, mit den schwächeren beginnend:

Dextrosehefen (apiculatus, Weinhefen),
Rohrzuckerhefen,
Bierhefen (Saaz),
Bierhefen, Brennereihefen (Frohberg),
Dextrinhefen (Logos, Pombe),
Stärkemehlhefen (Amylomyces Rouxii).

Alle anderen Verhältnisse gleichgesetzt, sollten die Dextrin- und Stärkemehlhefen die stärksten sein, denn sie vergären zunächst den Zucker mit den anderen, und es bleibt ihnen dann noch Dextrin und Stärke.

Die Hefen mit aus der Zelle austretenden Eiweißenzymen sind stärker wie andere, denn sie können selbsttätig unverdauliche Eiweißstoffe sich verdaulich machen.

3. Lüftung:

Die Heferassen bilden eine Reihe von den wenig luftbedürftigen aufsteigend bis zu den stark luftbedürftigen; die ersteren können als Gärhefen, die

anderen als Wuchshefen bezeichnet werden. Die Gärhefen haben geringere Vermehrungskraft, sammeln Eiweiß, werden gärstark und überwinden dadurch gelegentlich die wüchsigeren Hefen. Es ergibt sich folgende Reihe, mit den Wuchshefen beginnend:

Kahmhefe,
Bäckerhefe,
Brennereihefe,
Brauereioberhefe,
Brauereiunterhefe.

Wenig Luft — die Gärhefen kommen auf.
Viel Luft — die Wuchshefen kommen auf.

4. Empfindlichkeit gegen Umsatzstoffe:

Gärhefen erzeugen viel und ertragen viel Alkohol.
Wuchshefen sind alkoholempfindlich.

Es ergibt sich folgende Reihe, mit den den höchsten Alkoholgehalt erzeugenden beginnend:

Weinhefe,
Brennereihefe,
Bäckerhefe,
Weißbierhefe,
Brauereioberhefe,
Brauereiunterhefe,
Kahmhefe.

In konzentrierten, hochvergorenen Flüssigkeiten verschwinden die Kahmhefen. Bierhefen sind alkoholempfindlicher als Brennereihefen. Bierhefen verschwinden in konzentrierten hochvergorenen Flüssigkeiten.

Bierkulturhefen sind kohlensäureempfindlich; wilde Hefen weniger. Ein kohlensäurearmes Bier wird trübe von normaler Hefe, sie wächst; bei stärkerem Kohlensäuregehalt setzt die Kulturhefe aus, an ihre Stelle tritt die unempfindliche wilde. Besonders stark ist die Differenz in der Empfindlichkeit gegen spezifische Umsatzstoffe der einzelnen Rassen. Eine Rasse mit spezifischer Giftentwicklung unterdrückt eine andere, an sich stärkere.

5. Ob die einzelnen Heferassen gegen die Bewegung verschieden empfindlich sind, ist nicht bekannt; es ist aber wahrscheinlich, daß die Brauereihefen empfindlicher sind und eine zu starke Bewegung nicht lieben.

6. Empfindlichkeit gegen Säuren.

In folgender Reihe steigt die Empfindlichkeit gegen Säuren und Antiseptika:

die stärksten: die Kahmhefen,
Weinhefen,
Wuchshefen,
Brennereihefen,

Weißbierhefen,
obergärige Bierhefen;
die schwächsten: untergärige Bierhefen.

Bierhefen gehen in Weinmost, wegen der Säuren, zu Grunde, ebenso in gesäuerten Branntweinmaischen.

7. Temperatur. Die Empfindlichkeit gegen unpassende Temperaturen ist die stärkste.

Man hat folgende Reihe:

um 6° R. Kalthefen (Wilde, auch Kahm, Fundstelle Lagerkeller der Brauereien);

um 12° R. Gemäßigtes Klima, kältere Zone: Untergärige Bierhefen (Fundstelle Gärkeller der Brauereien).

Gemäßigtes Klima, wärmere Zone:

um 18° R. obergärige Bierhefen,
Weißbierhefen,
um 22° R. Brennereihefen,
um 24° R. Wuchshefen,
um 30° R. Warmhefen:
Pombe,
Logos,
Japanische und Chinesische Hefen.

Es gibt aber auch Warm-Kahme.

8. In bewegten Flüssigkeiten, in welchen die Hefen gleichmäßig verteilt sind und nicht zur Abscheidung gelangen, verläuft die Konkurrenz rein nach den oben ausgeführten Gesetzen. Der Stärkere überwindet den Schwächeren. Dieser Kampf nach den Regeln der Kunst so geleitet, daß eine Heferasse die andere völlig vernichtet, heißt: **„Natürliche Reinzucht"**. Trotzdem gelangen in den Gärungsgewerben häufig, und zwar beabsichtigt, schwächere zum Übergewicht, indem gewisse Regelmäßigkeiten des Ausscheidens der Heferassen benutzt werden.

Dieses Trennungssystem der Heferassen nennt man das Satz- oder Triebverfahren.

Daneben gibt es noch die Lokalisierung nach Beijerinck: Ein luftbedürftiger Organismus, welcher am Grunde des Züchtungsgefäßes eine Nährstoffquelle (z. B. eine Bohne) hat, stellt sich in einer mittleren Zone ein; er verändert seine Stellung je nach der Schichthöhe der Flüssigkeit.

B. Natürliche Reinzucht nach dem Satz- oder Triebverfahren.

I. In der Gärung.

A. Einzelne Hefezellen gedacht von gleicher Größe und gleichem spezifischem Gewicht.

1. An der Bewegung nehmen nicht alle Zellen teil: der Kohlensäuretrieb der einzelnen Zellen muß stärker sein als das Sinkvermögen.

   Schwache Zellen bleiben liegen, ebenso tote und Unreinigkeiten.

   Zu unterst liegen also schwache, ohne Zymase.
2. Die stärksten Hefen werden bis an die Oberfläche geführt, andere gehen auf halber Höhe wieder nach unten.

   Beim Umpumpen des halben Bottichs während ansteigender Gärung hat man

   aus der oberen Hälfte die starken,

   „ „ unteren „ „ schwächeren.
3. Bei stärkster Gärung kreist die gesamte Flüssigkeit, die starken nehmen die schwachen mit, es ist eine gleichmäßige Mischung.
4. Bei fallender Gärung setzen sich zuerst

   die schwachen,

   dann die stärkeren.

   Welches sind die stärkeren?

   a) diejenigen, bei denen die Diffusion am stärksten (dünnste Zellwände, junge Zellen);

   b) diejenigen mit mehr Zymasevorrat, die Rahme sind schwache;

   c) diejenigen mit den stärksten diastatischen Enzymen

   es setzen sich zuerst die Traubenzuckerhefen,

   dann die Maltosehefen,

   „ „ Maltodextrinhefen,

   „ „ Dextrinhefen,

   „ „ Stärkemehlhefen.

B. Einzelne verschieden schwere Hefezellen gedacht, also verschieden große und verschiedenen spezifischen Gewichts:
   1. es steigen am höchsten die kleinsten und leichtesten;
   2. es setzen sich zuerst die größesten und spezifisch schwersten;
   3. es liegen oben auf im Satz die kleinsten, das sind die wilden (spez. Gewicht bedingt durch Trockensubstanz und Kohlensäure im Innern).

C. Zellengruppen gedacht:

   es steigen am höchsten, in deren Zellengewirre sich die Kohlensäure verfängt (Oberhefen),

   und diejenigen Zellen, bei denen das Zellengewirr sich zur Zeit starker Kohlensäureentwickelung bildet.

Zellengewirr entsteht entweder durch Sproßverbände — dies ist der seltenere Fall, oder durch Klumpen(Bruch-)bildung (zahlreiche Zellen werden durch die schleimige Beschaffenheit ihrer Oberfläche zusammengekittet zu einem Klümpchen), dies ist der in der Praxis entscheidende Punkt.

Die früh bruchgebenden Hefen sind die obergärigen, bei ihnen tritt der Bruch zur Zeit starker Kohlensäureentwickelung ein, sie werden daher an die Oberfläche emporgehoben und bleiben daselbst als Hefenschaum liegen. Bei systematischer Entfernung des Schaumes und durch seine Benutzung zur Weiterführung der Hefe findet man in den aufeinander folgenden Trieben verschiedene Heferassen.

Bei fallender Gärung genügt der Kohlensäurestrom nicht mehr, um alles schwebend zu halten, es sinken zuerst die größten und schwersten Massen, also wieder die Bruchhefen. Auf dem Boden des Bottichs liegen daher zu unterst

die Bruchhefen,
dann folgen die Staubhefen,
endlich die kleinen einzelligen, wilden Hefen.

Bazillen, als kleinste Organismen, werden am längsten schwebend gehalten, sie folgen jeder Flüssigkeitsbewegung.

II. Im reinen Satz- oder Schlämmverfahren im Wasser:

Es setzen sich zuerst

die Klumphefen,
dann die großen Zellen,
" " kleinen "

In strömendem Wasser kann die Scheidung besonders sicher bewirkt werden.

Alphabetisches Sachregister.

A.

Amerikanisches Gärsystem 20.
Angärung 129.
Anpassung der Hefe an Giftstoffe 51.
— der Hefe an kalte Temperaturen 51.
Aseptische Methode 1, 43.
Auerbach, Konkurrenzversuche zwischen Kahm- und Kulturhefen 85.

B.

Bau 79.
Beijerinck 6, 31, 143.
Bennewitz 100.
Brennereigewerbe, Reinhefe im — 4.
—, natürliche Reinzucht im — 8.
Brennereihefe, Trennung von Kahm- und — 88.
—, Trennung von —-Rassen 133.
—, Trennung von — und untergäriger Brauereihefe 73.
Bruchhefe 145.
Buir, Hefe-— 105.
Butterfäure 139.

D.

Delbrück, die natürliche Hefereinzucht 1.
—, die Ausbildung der Kunsthefebereitung zum natürlichen System der Hefereinzucht 28.
—, die natürliche Reinzucht in der Praxis 34.
—, Neues über natürliche Hefezucht 46.
—, die Kampfenzyme 136.
—, Gesamt-Ergebnisse 141.
Dextrin vergärende Hefe 31.
Dickmaischen, Verwendung von — bei Trennungsversuchen von Brennereihefe und unterg. Brauereihefe 74.
—, Verwendung von — bei Gärversuchen mit Pombe 97.

E.

Effront 51.
Einzellenkultur 2.
Einzellenzucht 1.
Enquete über Heferassen in deutschen Brennereien 30.
Essigsäure 139.

F.

Fischer 26, 61.
Flußsäure, Anwendung von — als Spaltpilzgift 105, 107, 110.
Formaldehyd, Anwendung von — als Spaltpilzgift 110.
Frohberg, Hefe — 16, 22, 58, 61, 85, 125, 142.

G.

Gärführung, Statistik der — 52.
Gärhefe 111.
Gärintensität 129.
Gärtemperatur, Einfluß der niedrigen — auf Reinhaltung der Hefe 16.
Gegengifte 137.
Gesetze, allgemeine — der natürlichen Reinzucht 111.
— der natürlichen Reinzucht 6.
Größe der Hefezellen 130.
Grünwald, Gärverfahren von — 17.

H.

Hanow 22.
Hansen 1, 2, 34.
Hayduck 2, 13, 138.
Hefezuchtanstalt 1.
Heinzelmann 13.
Henneberg 133.
Hesse 30, 99, 133.
Holderer 40.

I.

Infektion, Beseitigung der — durch natürliche Reinzucht 17.
Irmisch 21.

K.

Kahmhefe 18, 42, 143.
—, Konkurrenzversuche zwischen — und Kulturhefe 85.
Kalthefe 42, 143.
Kampfenzyme 136.
Kartoffelmaische 97, 100, 134.
Kernhefe 20.
Klima 38.
König 138.
Konglutinieren 139.
Kulturverhältnisse, die Bedeutung der — der Hefe für die natürliche Reinzucht 6.
Kunsthefe 9.
—=bereitung 2, 3, 8, 28, 105.

L.

Lauge 138.
Leykum 40, 44.
Lindner 4, 31, 36, 44 64, 78, 139.
Lintner 34.
Lokalisierung 6.
Lüftung, Einfluß der — auf Reinhaltung der Gärung 47.
—, Konkurrenzversuche mit —; ohne —, zwischen Kahm= und Kulturhefe 86.

M.

Maercker 35.
Mechanische Mittel zur Reinhaltung der Gärung 2.
Melitriose 79.
Milchsäure, Anwendung von — als Spaltpilzgift 105, 110.
—, Verwendung von — bei Trennungsversuchen 81, 87, 98.
Milchsäurebakterien 9, 12.
Munsche, Trennung von Brennereihefe und untergäriger Brauereihefe 73.
—, Trennung von wilder Hefe und untergäriger Brauereihefe 51, 62.
Mutterhefe 9.

N.

Nägeli 35, 43.
Nährsalze, Verwendung von — zu Trennungsversuchen bei Kahm= und Kulturhefe 87.
Natürliche Reinzucht, die Kunsthefebereitung als — 28.
— im Brennereigewerbe 8.
— im Brauereibetriebe 12.
— in der Preßhefefabrikation 11.
— in der Praxis 31.
Natürliche Hefezucht, Neues über — 16.

O.

Obergärige Brauereihefen 13.
— Hefe, Trennung von — und untergäriger Hefe 73.
— Erscheinung bei untergäriger Bierhefe 69.
Octosporus 31.

P.

Pauzner 38, 62.
Pasteur 1, 34.
Peptase 138.
Physiologie, Gärungs=— 26.
Physiologischer Zustand 2.
Pombe, Schizosaccharomyces- — 31, 90.
Prior 61.

R.

Rasse II 4, 10, 28, 90, 105, 133.
—, Vergleichende Gärversuche von Pombe und — 91.
Rasse XII, Trennung von — und Rasse II 133.
Rasseneigenschaften, Bedeutung der — der Hefe für die natürliche Reinzucht 7.
Reinhefe 4, 14.
Rothenbach 31, 51.
—, Anwendung spaltpilzfeindlicher Agentien in der Brennerei 103.
—, Schiz›saccharomyces-Pombe 90.

S.

Saaz, Hefe — 16, 22, 57, 61, 113, 125, 141.
Saccharomyces apiculatus 22, 141.
Salzsäure, Versuche mit — als Spaltpilzgift 105.
Satzverfahren 48, 143.
Säuberlich 99.
Säurebildung der Pombe 92.
Schichtenbildung 6, 19, 40, 85.
Schicht, Benutzung der untersten Hefe=— als Saatgut 116.
—, Quantitative Bestimmung der Verunreinigung der Hefe=— 65.
Schizosaccharomyces-Pombe 31, 90, 141.
Schlämmen (—=Verfahren) 67, 117, 145.
Schlauchen (grün resp. lauter) 22.
Schnellgärung 44.
Schönfeld 13, 41, 57, 85.
—, Trennung hoch= und niedrigvergärender untergäriger Heferassen 113, 119.
—, Vergleichende Betrachtungen über das Verhalten von Hefe Saaz und Frohberg bei der Hauptgärung in untergärigem Biere 125.

Schultze 15, 41.
Schweflige Säure, Anwendung von — als Spaltpilzgift 107, 110.
Spaltpilz, die Anwendung —-feindlicher Agentien in Brennereien 103.
—, Unterdrückung der —e durch Pombe 92.
—-widerstandsfähigkeit 32.
Staubhefe 145.
Symbiose 7.

T.

Temperaturführung, Einfluß der — auf Reinhaltung der Gärung 47.
Temperatur, Empfindlichkeit der Hefen gegen — 143.
Toter Punkt, Vermeidung des — 49.
Triebverfahren 143.

U.

Umpumpen, Einfluß des —s auf Reinhaltung der Gärung 39.
—, das — bei Trennung von Saaz und Frohberg 117.
Untergärung, natürliche Reinzucht in der — 14.
Untergärige Hefe, Trennung von — und wilder Hefe 37, 54, 62.
Untergärige Hefe, Trennung von — und Kahmhefe 85.
—, Trennung von hoch- und niedrigvergärenden untergärigen Rassen 113, 119.
—, Vergleichende Versuche bei untergärigen Hefen Saaz und Frohberg 125.
Unsatzstoffe, Empfindlichkeit der Hefen gegen — 142.

V.

Verbände, Hefe-— 129.
Vermehrung, Hefe-— 129.
Virulenz 139.

W.

Warmhefe 42, 143.
Weinhefe 5, 141.
Weißbierhefe 4, 12, 142.
Wilde Hefe, Trennung der — von Kulturhefe 38, 62, 68.
Windisch 13.
Wortmann 140.
Wuchshefe 141.

Z.

Zooglöenbildung 7.

WELLCOME LIBRARY INSTITUTE

Druck von Gebr. Unger in Berlin, Bernburger Str. 30.

Verlag von Paul Parey in Berlin SW., Hedemannstr. 10.

Max Maerckers
Handbuch der Spiritusfabrikation.

Achte, vollständig neubearbeitete Auflage.

Herausgegeben von

Dr. Max Delbrück,

Geh. Regierungsrat, Prof. an der Kgl. landw. Hochschule und Vorsteher des Instituts für Gärungsgewerbe zu Berlin.

Mit 230 Abbildungen und 4 Tafeln.

Ein starker Band von 940 Seiten. Gebunden Preis 24 M.

Nach Maerckers Tod konnte es keine berufenere Persönlichkeit geben für die Bearbeitung einer neuen Auflage dieses Handbuches, als Geheimrat Prof. Dr. Delbrück, den Vorsteher des Instituts für Gärungsgewerbe in Berlin. Mit Hilfe des grossen, ihm zur Verfügung stehenden Stabes wissenschaftlicher Mitarbeiter ersten Ranges ist das Werk unter Beibehaltung des bewährten alten Planes eine

vollständige Neuschöpfung

geworden, an der niemand vorübergehen kann, der es vermeiden will, betreffs der Rentabilität seines Betriebes hinter anderen Brennereien zurückzustehen. Das Werk ist das notwendigste Requisit jedes Brenners.

Wohl noch keine neue Auflage des Maerckerschen Werkes zeigt gegenüber früheren Auflagen ein so vollständig verändertes Bild, wie diese **erste von Geheimrat Delbrück** besorgte, was sich auch schon äusserlich in der Zunahme um 160 Seiten Text ausspricht, wozu noch eine Vermehrung der Abbildungen und Beigabe von Tafeln tritt.

Zu beziehen durch jede Buchhandlung.

Verlag von Paul Parey in Berlin SW., Hedemannstr. 10.

Mikroskopische Betriebskontrolle in den Gärungsgewerben

mit einer Einführung in die

technische Biologie, Hefenreinkultur und Infektionslehre.

Für Studierende und Praktiker bearbeitet von

Prof. Dr. Paul Lindner,

Vorsteher der Abteilung für Reinkultur am Institut für Gärungsgewerbe in Berlin.

Dritte, neubearbeitete Auflage.

Mit 229 Textabbildungen und 4 Tafeln. Gebunden, Preis 17 Mark.

Von diesem rühmlichst bekannten Werke liegt bereits die dritte Auflage vor, welche gegen die zweite eine Vermehrung von über 100 Seiten und 73 Abbildungen aufzuweisen hat. In der anregendsten Weise wird der Leser in der Einleitung mit den notwendigen Vorbedingungen bekannt gemacht, dann wird auf das Mikroskop und seine Handhabung übergegangen und die Flora und Fauna der Mälzerei- und Brauereirohmaterialien besprochen. Es folgen Einrichtung und Arbeiten des mikroskopisch-biologischen Laboratoriums, die biologische Betriebskontrolle und die Infektionsquellen der Bierbrauerei. Die Kapitel über Schimmelpilz-, Hefen- und Bakterienkunde sind besonders reich illustriert.

Der Gebrauch und die Lektüre des Lindnerschen Werkes ist jedem Gärungstechniker aufs dringendste anzuempfehlen.

ATLAS

der mikroskopischen Grundlagen der Gärungskunde

mit besonderer Berücksichtigung der biologischen Betriebskontrolle.

Von **Prof. Dr. Paul Lindner,**

Vorsteher der Abteilung für Reinkultur am Institut für Gärungsgewerbe in Berlin

111 Tafeln mit 418 Einzelbildern. In Leinen gebunden, Preis 19 Mark.

Diese Bildersammlung wird in erster Linie dem mit dem Mikroskop bereits Vertrauten von Nutzen sein; aber auch demjenigen, der sich damit nicht befasst hat, wird bei ihrer Betrachtung eine Belehrung zu teil werden, wie sie das gedruckte oder gesprochene Wort oder eine schematische Zeichnung nie bieten kann. — Das Werk ist eine unentbehrliche Ergänzung der „mikroskopischen Betriebskontrolle“ des Verfassers.

Zu beziehen durch jede Buchhandlung.

Verlag von Paul Parey in Berlin SW., Hedemannstr. 10.

Das chemische Laboratorium des Brauers.

Anleitung zur chemisch-technischen Betriebskontrolle für Studierende und Praktiker.

Von

Prof. Dr. Wilhelm Windisch,

Vorsteher in der techn.-wissenschaftl. Abteilung des Instituts für Gärungsgewerbe u. Leiter des chem. Laboratoriums d. Brauerschule d. Versuchs- u. Lehranstalt f. Brauerei in Berlin.

Fünfte, erweiterte Auflage. Mit 80 Textabbildungen. Gebunden, Preis 15 M.

Moritz und Morris.
Handbuch der Brauwissenschaft.

Auf Veranlassung der Versuchs- und Lehranstalt für Brauerei in Berlin ins Deutsche übertragen von

Prof. Dr. Wilhelm Windisch.

Mit 49 Textabbildungen. Gebunden, Preis 12 M.

Anleitung zur Untersuchung des Malzes
auf Extraktgehalt sowie auf seine Ausbeute in der Praxis

nebst Tabellen zur Ermittelung des Extraktgehaltes.

Von

Prof. Dr. Wilhelm Windisch.

Dritte Auflage. Gebunden, Preis 3 M. 50 Pf.

Die Herstellung obergäriger Biere.

Von

Dr. Franz Schönfeld,

Vorsteher d. Abteilung für Obergärung a. d. Versuchs- u. Lehranstalt f. Brauerei in Berlin.

Mit 17 Textabbildungen. Gebunden, Preis 4 M. 50 Pf.

Brauerei-Maschinenkunde.

Von

W. Goslich,

Ingenieur, Vorsteher der maschinentechnischen Abteilung des Instituts für Gärungsgewerbe in Berlin.

Erster Teil: Dampfbetrieb.

Mit 178 Textabbildungen und einer Tafel. Gebunden, Preis 8 M.

Beiträge zur
Geschichte des Biers und der Brauerei.

Gesammelte Vorträge von

Prof. Dr. Max Delbrück, und **Prof. Dr. Emil Struve.**
Geh. Regierungsrat.

Preis 1 M.

Zu beziehen durch jede Buchhandlung.

Verlag von Paul Parey in Berlin SW., Hedemannstr. 10.

J. Reynolds Green.

Die Enzyme.

Ins Deutsche übertragen von Prof. Dr. Wilhelm Windisch.

Gebunden Preis 16 M.

Zur Kenntnis der Milchsäurebakterien,

der Brennereimaische, der Milch, des Bieres, der Presshefe, der Melasse, des Sauerkohls, der sauren Gurken und des Sauerteigs,

sowie einige Bemerkungen über die

Milchsäurebakterien des menschlichen Magens.

Aus dem botanischen Laboratorium des Instituts für Gärungsgewerbe zu Berlin.

Von W. Henneberg, Dr. phil., Assistent.

Mit Textabbildungen und 2 Tafeln. Preis 3 M.

Die Mikroorganismen der Gärungsindustrie.

Von Alfred Jörgensen.

Vierte, neubearbeitete und vermehrte Auflage.

Mit 79 Textabbildungen. Gebunden, Preis 8 M.

Handbuch der Presshefefabrikation.

Von Otto Durst,

Fabrikdirektor in Buch bei Nürnberg.

Zweite, neubearbeitete Auflage.

Mit 190 Textabbildungen und 8 Tafeln. Gebunden, Preis 16 M.

Grundriss der Bierbrauerei.

Von Dr. C. J. Lintner,

Professor an der Kgl. Technischen Hochschule in München.

Zweite neubearb. Auflage. Mit 35 Textabbildungen. Gebunden, Preis 2 M. 50 Pf.

Handbuch der landwirtschaftlichen Gewerbe.

Von Dr. C. J. Lintner,

Professor an der Kgl. Technischen Hochschule in München.

Mit 256 Textabbildungen und 2 Tafeln. Gebunden, Preis 12 M.

Zu beziehen durch jede Buchhandlung.

PAUL PAREY in BERLIN
Verlagsbuchhandlung